

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ULTRASES İŞLEMİ UYGULANARAK HİNDİSTAN CEVİZİ
KABUĞU SIVI TÜTSÜSÜ İÇEREN ZENCEFİL NİŞASTASI BAZLI
YENİLEBİLİR FİLMLEİN ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Yovita RAHMASARI

Enstitü Anabilim Dalı : GIDA MÜHENDİSLİĞİ

Tez Danışmanı : Dr.Öğr. Üyesi Gökçe POLAT YEMİŞ

Ağustos 2021

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ULTRASES İŞLEMİ UYGULANARAK HİNDİSTAN CEVİZİ
KABUĞU SIVI TÜTSÜSÜ İÇEREN ZENCEFİL NIŞASTASI BAZLI
YENİLEBİLİR FİLMLEİN ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Yovita RAHMASARI

Enstitü Anabilim Dalı : GIDA MÜHENDİSLİĞİ

Bu tez 12 Ağustos 2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Ayşe AVCI

**Dr. Öğr. Üyesi Gökçe
POLAT YEMİŞ**

Doç. Dr. Raciye MERAL

Jüri Başkanı

Üye

Üye

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Yovita RAHMASARI

Ağustos 2021

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, her konuda bilgi ve desteğini almaktan çekinmediğim, araştırmanın planlanması, yapılması ve yazılması sürecindeki tüm aşamalarda beni yönlendiren değerli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Gökçe POLAT YEMİŞ'e;

Tez çalışmamın laboratuvar aşamasında bilgi ve altyapı desteği sunan sevgili hocalarım Doç. Dr. Oktay YEMİŞ'e, Prof. Dr. Zehra AYHAN'a, Dr. Öğr. Üyesi Güliz HASKARACA'ya, Arş. Grv. Elif SEZER'e, Arş. Grv. Gülşah KARABULUT'a ve Arş. Grv. Dr. Hasan ALGÜL'e;

Bu tez çalışmasına maddi açıdan destek veren Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Koordinatörlüğü'ne (Proje No: 2019-7-24-45);

Maddi ve manevi desteklerini her zaman üzerimde hissettiğim sevgili aileme;

En içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|------|
| TEŞEKKÜR | i |
| İÇİNDEKİLER | ii |
| SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ | v |
| ŞEKİLLER LİSTESİ | vi |
| TABLolar LİSTESİ | vii |
| ÖZET | viii |
| SUMMARY | ix |
| BÖLÜM 1. | |
| GİRİŞ..... | 1 |
| BÖLÜM 2. | |
| KAYNAK ARAŞTIRMASI | 5 |
| 2.1. Nanoteknoloji ve gıda Alanında Nanoteknoloji Uygulamaları | 5 |
| 2.1.2. Nanoemülsiyonlar | 6 |
| 2.1.3. Nanoemülsiyon üretimi..... | 8 |
| 2.1.4. Gıda ambalajlamada nanoteknoloji kullanımı..... | 10 |
| 2.1.4.1. Yenilebilir film..... | 13 |
| 2.2. Zencefil Nişastası | 17 |
| 2.3. Sıvı Tütsü..... | 18 |
| 2.3.1. Sıvı tütsü üretimi..... | 18 |
| 2.3.2. Sıvı tütsünün antimikrobiyal aktivitesi..... | 20 |
| 2.3.3. Hindistan cevizi kabuğu sıvı tütsüsü (CSLS)..... | 22 |
| BÖLÜM 3. | |
| MATERYAL VE YÖNTEM | 28 |

| | |
|---|----|
| 3.1. Materyal | 28 |
| 3.2. Nanoemülsiyon Üretimi..... | 29 |
| 3.3. Partikül Büyüklüğü ve ζ -Potansiyeli..... | 29 |
| 3.4. Film Üretimi | 29 |
| 3.5. Yenilebilir Filmlerin Karakterizasyonu | 30 |
| 3.5.1. Film kalınlığı..... | 30 |
| 3.5.2. Renk ve opaklık..... | 30 |
| 3.5.3. Su buharı geçirgenliği..... | 31 |
| 3.5.4. Mekanik özellikler..... | 31 |
| 3.5.5. Termal özellikleri..... | 32 |
| 3.5.6. FTIR analizi..... | 32 |
| 3.5.7. FESEM..... | 32 |
| 3.5.8. Antibakterial aktivite..... | 33 |
| 3.6. Filmlerin Kıyma Önekleri Üzerine Uygulanması..... | 33 |
| 3.6.1. pH..... | 34 |
| 3.6.2. Tiyobarbütirik asit değeri (TBARS)..... | 34 |
| 3.6.3. Duyusal analiz..... | 34 |
| 3.6.4. Filmle kaplanmış kıyma örneklerinde <i>E. coli</i> O157:H7 inaktivasyonu..... | 36 |
| 3.7. İstatistik Analiz | 36 |

BÖLÜM 4.

| | |
|---|----|
| ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA..... | 37 |
| 4.1. Yenilebilir Filmlerin Karakterizasyonu | 37 |
| 4.1.1. Partikül büyüklüğü ve zeta potansiyeli..... | 37 |
| 4.1.2. Filmlerin görünüş ve optik özellikleri..... | 38 |
| 4.1.3. Filmlerin bariyer özellikleri ve mekanik özellikleri..... | 40 |
| 4.1.4. Filmlerin termal özellikleri..... | 43 |
| 4.1.5. FTIR analizi..... | 44 |
| 4.1.6. Filmlerin yapısal özellikleri..... | 45 |
| 4.1.7. Yenilebilir film çözeltilisinin antibakteriyel aktivitesi..... | 48 |
| 4.2. Filmlerin Kıyma Örnekleri Üzerine Uygulanması | 51 |

| | |
|---|----|
| 4.2.1. Kıyma örneklerinin pH ve TBARS değerleri..... | 51 |
| 4.2.2. Duyusal analiz sonuçları..... | 53 |
| 4.2.3. Filmle kaplanmış kıyma örneklerinde <i>E. coli</i> O157:H7 inaktivasyonu..... | 54 |
| BÖLÜM 5. | |
| SONUÇ VE ÖNERİLER..... | 57 |
| KAYNAKLAR | 59 |
| EKLER | 74 |
| ÖZGEÇMİŞ | 76 |

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

| | |
|-------|--|
| %E | : Elongation/uzama |
| BAP | : Benzo(a)piren |
| CSLS | : Hindistan cevizi kabuğu sıvı tütsüsü |
| FDA | : Food and drug administration/Amerikan Gıda ve ilaç idaresi |
| FESEM | : Alan emisyonlu taramalı elektron mikroskobu |
| FTIR | : Fourier dönüşümlü kızılötesi |
| MBC | : Minimum bakterisidal konsantrasyonu |
| MDA | : Malondialdehit |
| MIC | : Minimum inhibitör konsantrasyonu |
| PAH | : Polisiklik aromatik hidrokarbon |
| S/Y | : Su/yağ |
| TBA | : 2-tiyobarbitürik asit |
| TBARS | : Tiyobarbitürik asit değeri |
| TS | : Tensile strength/gerilme direnci |
| TSAYE | : Tryptic Soy Agar Yeast Extract |
| TSBYE | : Tryptic Soy Broth Yeast Extract |
| Y/S | : Yağ/su |
| YM | : Young modülü |

ŞEKİLLER LİSTESİ

| | |
|--|----|
| Şekil 2.1. Yenilebilir polimerler..... | 14 |
| Şekil 2.2. Sıvı tütsü üretimi..... | 19 |
| Şekil 3.1. Zencefil nişastası, hindistan cevizi kabuğu sıvı tütsü ve kıyma örneği..... | 28 |
| Şekil 3.2. Film üretimi | 30 |
| Şekil 3.3. Yenilebilir filmlerin kıyma üzerine uygulanması..... | 34 |
| Şekil 3.4. Duyusal analiz panelist formu | 35 |
| Şekil 3.5. Duyusal analiz için hazırlanan örnekler..... | 35 |
| Şekil 4.1. Filmlerin görünüş ve optik özellikleri..... | 39 |
| Şekil 4.2. Zencefil nişastası filmlerinin DSC tremogramları..... | 43 |
| Şekil 4.3. Yenilebilir filmlerin FTIR spektrumları..... | 45 |
| Şekil 4.4. Zencefil nişasta filmi örneklerine ait FESEM görüntüleri | 47 |
| Şekil 4.5. Yenilebilir film çözeltisinin <i>S. aureus</i> 'a karşı antibakteriyel aktivitesi..... | 49 |

TABLolar LİSTESİ

| | |
|---|----|
| Tablo 2.1. CSLS’de bulunan kimyasal bileşen yüzdeleri (GCMS) | 24 |
| Tablo 4.1. Partikül büyüklüğü ve zeta potansiyeli | 37 |
| Tablo 4.2. Filmlerin görünüş ve optik özellikleri..... | 39 |
| Tablo 4.3. Filmlerin kalınlık, bariyer ve mekanik özellikleri | 41 |
| Tablo 4.4. Yenilebilir film çözeltilisinin antibakteriyel aktivitesi | 50 |
| Tablo 4.5. Kıyma örneklerinin pH ve TBARS değerlerinin depolama Süresince değişimi..... | 52 |
| Tablo 4.6. Duyusal değerlendirme sonuçları | 53 |
| Tablo 4.7. Depolama sürecince kıyma örneklerindeki <i>E. coli</i> O157:H7 sayısındaki değişim..... | 55 |

ÖZET

Anahtar kelimeler: Zencefil nişastası, Hindistan cevizi kabuğu sıvı tütsüsü, yenilebilir film, ultrases işleme, *E. coli* O157:H7 inaktivasyonu, sığır eti kıyması

Bu çalışmada, ultrases işleme uygulanarak hindistan cevizi kabuğu sıvı tütsüsü içeren zencefil nişastası bazlı nano-emülsiyon filmlerin özellikleri araştırılmıştır. Filmlerin inhibisyon etkisi, 12 gün boyunca 4°C'de kıyma üzerinde *Escherichia coli* O157:H7'ye karşı belirlenmiştir. Kıymanın oksidatif kararlılığı ve duyu özellikleri de depolama sırasında test edilmiştir. Hindistan cevizi sıvı tütsüsü (CSLS) içeren film çözeltileri, 218,43 ila 242,40 nm arasında değişen küçük partikül büyüklüğü sergilemiş ve film formülasyonunun oldukça kararlı bir yüzey yüküne (-18,30 ile -17,90 mV) sahip olduğu görülmüştür. Ultrases işleme, değişen parçacık özelliklerinden dolayı, filmlerin fiziksel, mekanik, bariyer, mikroyapısal ve antibakteriyel özelliklerini önemli derecede etkilemiştir. Filmlerin mikroyapısı, ultrases işleminden sonra daha homojen hale gelmiş ve bu da su buharı geçirgenliğinin (WVP) azalmasına neden olmuştur. Zencefil nişasta filmi için WVP değeri $1,54 \pm 0,10$ g·mm/m²·h·kPa'dır ve zencefil nişasta-CSLS filmlerinin WVP değerleri, CSLS içeriğinin artmasıyla kademeli olarak azalmıştır ($p < 0,05$). CSLS'nin eklenmesi, filmlerin absorpsiyon bant konumlarını ve yapısını önemli ölçüde değiştirmemiştir. Bu bulgu, zencefil nişasta filmlerinin iyileştirilmiş su buharı bariyer özelliklerini desteklemektedir. Tütsünün eklenmesi, konsantrasyona bağlı olarak filmlerin optik özelliklerini etkilemiştir. Renk parametreleri analiz edildiğinde, filmlere tütsünün eklenmesi L^* değerinde azalmaya ve hem a^* hem de b^* değerlerinde ise artışa neden olmuştur. CSLS, film formülasyonuna eklendiğinde opaklık artmış ve bu etki incelenen tüm CSLS konsantrasyonlarında gözlenmiştir ($p < 0,05$). Mekanik test sonuçlarına göre, hem gerilme direnci (TS) hem de kopma anında uzama yüzdesi (EAB) değerleri kontrol filmine kıyasla önemli ölçüde artış gösterdiği için ($p < 0,05$), CSLS ilavesi filmlerin mekanik özelliklerini iyileştirmiştir. Elde edilen sonuçlar, CSLS ve filmler arasındaki güçlü etkileşimlerin nişasta filmlerinin termal kararlılığını arttırdığını ve CSLS içermeyen nişasta filmlerine kıyasla, kompozit filmlerdeki bileşenler arasındaki etkileşimleri ayırmak için daha fazla miktarda termal enerjiye ihtiyaç duyulduğunu göstermiştir. Test bakterilerine karşı elde edilen antibakteriyel etki, ultrasonik işleme sonucunda önemli ölçüde artmıştır ($p < 0,05$). Kıyma örnekleri üzerindeki CSLS ilaveli zencefil nişasta filmlerinin *E. coli* O157: H7'ye karşı antimikrobiyal aktivitesi, konsantrasyona bağlıdır ve konsantrasyon *E. coli* O157: H7'yi inhibe etmede önemli bir faktördür. CSLS, depolama süresi boyunca tüm işlenmiş kıyma örnekleri için lipid oksidasyonunu etkili bir şekilde inhibe etmiştir. CSLS içeren zencefil nişasta filmi, kıyma etinin duyu özellikleri üzerinde etki etmeden, *E. coli* O157: H7'ye karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir. Bu sonuçlar, CSLS'nin, zencefil nişasta filmlerinde antimikrobiyal madde olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğunu ve dolayısıyla gıda uygulamalarında aktif ambalaj malzemesi olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF GINGER STARCH BASED EDIBLE FILMS INCORPORATED WITH COCONUT SHELL LIQUID SMOKE BY ULTRASOUND TREATMENT

SUMMARY

Keywords: Ginger starch, coconut shell liquid smoke, edible film, ultrasound treatment, *E. coli* O157:H7 inactivation, ground beef

In this study, the properties of ultrasound treated ginger starch nano-emulsion films incorporated with coconut shell liquid smoke (CSLS) were investigated. Inhibitory effects of films were determined against *Escherichia coli* O157:H7 on ground beef at 4 °C for 12 days. Oxidative stability and sensory properties of ground beef were also tested during storage. The film forming solutions containing CSLS exhibited small particle sizes ranging from 218.43 nm to 242.40 nm and film formulation had quite stable surface charge (-18,30 and -17,90 mV). Ultrasound treatment significantly affected the physical, mechanical, barrier, microstructural, and antibacterial properties of films, due to changing particle properties of films. Microstructure of films became more homogeneous after ultrasound treatment and caused to lower water vapor permeability (WVP). The WVP for the ginger starch film was $1,54 \pm 0,10$ g.mm/m²h.kPa, which decreased significantly with the impregnation of CSLS. The WVP values of ginger starch-CSLS films gradually decreased with the increase of CSLS content ($p < 0.05$). The incorporation of CSLS did not significantly change the absorbance band positions and structure of the films. This finding supported the improved water vapor barrier properties of ginger starch films. The addition of liquid smoke affected optical properties of films depending on the concentration. Analyzing color parameters, the incorporation of liquid smoke into films caused a decrease in L^* and an increase in both a^* and b^* . Opacity increased when CSLS was incorporated into film formulation, and this effect was observed at all CSLS concentrations evaluated ($p < 0.05$). Mechanical testing results showed that the addition of CSLS improved the mechanical properties of the films, since both tensile strength (TS) and elongation at break (EAB) significantly increased compared to control film ($p < 0.05$). The results indicated that strong interactions between CSLS and films increased the thermostability of starch films and an increased amount of thermal energy is needed to dissociate interactions among components in composite films compared to starch films without CSLS. The antibacterial effect against test bacteria was enhanced significantly with US treatment ($p < 0.05$). The antimicrobial activity of ginger starch films containing CSLS against *E. coli* O157:H7 on ground beef samples was concentration dependent and concentration was a significant factor in inhibiting *E. coli* O157:H7. CSLS inhibited effectively lipid oxidation for all treated ground beef samples throughout the storage period. The ginger starch film containing CSLS showed antibacterial activity against *E. coli* O157:H7, without the impact on the sensory properties of ground beef. These results indicate that CSLS have the potential as antimicrobial agents in ginger starch films for use as active packaging materials in the food application.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Et ve et ürünleri insan beslenmesinde önemli yer tutan gıda maddeleri grubunu oluşturmaktadır. Et ve et ürünleri aynı zamanda çok kısa süre içerisinde bozulabilen ve taşıdığı mikroorganizmalarla insan sağlığını tehdit eden bir yapıya sahiptir. İskelet kasları esasen mikroorganizmalardan yoksun iken kesim işlemi süresince deri, dışkı, toprak, su ve hava kaynaklı mikroorganizmalarla kontamine olmaktadır. Sağlıksız, hijyenik olmayan ve kontrolsüz koşullarda üretilen et ve et ürünleri insanlarda pek çok hayvansal kaynaklı hastalığa ve mikrobiyolojik kaynaklı gıda zehirlenmeleri ile enfeksiyonlarına yol açabilmektedir. Taze ve donmuş et ve et ürünlerinde bulunma riski olan patojenler, *Escherichia coli* O157:H7 (*E.coli* O157:H7), *E. coli* Tip 1, *Salmonella* türleri, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*), *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter* türleri ve *Clostridium perfringens*'tir. Sığır eti kıyması sıklıkla insanda hastalığa neden olan *E. coli* O157:H7'nin gıda kaynaklı salgınlarıyla ilişkilendirilir. İlk *E. coli* O157 salgını 1982'de bildirilmiştir ve sığır kıymasıyla ilişkilendirilmiştir. Sığır eti kıyması, gıda kaynaklı salgınlar arasında en yaygın aracı olmayı sürdürmektedir ve *E. coli* O157 enfeksiyonu, hemolitik anemi, trombositopeni ve böbrek hasarı ile karakterize edilen hemolitik üremik sendroma (HÜS) neden olabilir. Yine de *E. coli* O157'nin önemli ve tehlikeli bir patojen olarak geniş çapta tanınması, bir fastfood zincirinde satılan az pişmiş sığır eti köfteleri ile ilişkilendirilen ve birkaç eyaleti kapsayan *E. coli* O157 salgınının görüldüğü 1993 yılında gerçekleşmiştir (Davis ve ark., 1993).

Et ve ürünlerinde tütsüleme yardımıyla dayanıklılığın artırılması çok eski yıllardan beri bilinmektedir. Tütsülemenin ürün dayanıklılığını artırma yanında yeni bir tat, koku ve renk geliştirme, oksidasyona engel olma ve yeni ürün oluşturma gibi çok faydası da vardır. Tütsünün bu özelliği odunun prolizi sürecinde oluşan birçok bileşiğe

bağlanabilir. Sıvı tütsüler doğal tütsü kondensatının sulu çözeltisi olup sağlık açısından sakıncalı olan katran fazından ayrılmıştır. Sulu fazda et ürünlerinin tütsülenmesinde önem taşıyan bütün bileşikler bulunmakta olup fenol, alkol, karboniller ve terpen hidrokarbonlar gibi bileşikleri içerir. Bu bileşikler özellikle suda erimiş şekilleriyle etkilidirler. Doğru kullanıldığında sıvı tütsünün doğal tütsüye oranla önemli avantajları vardır. Örneğin sıvı tütsü çok daha az emisyonu neden olduğu gibi daha az bir atık su sorunu oluşturarak çerve kirliliğine karşı doğal tütsüden daha başarıyla kullanılabilir. Sıvı tütsü ile işlenmiş et ürünleri doğal tütsü ile elde edilmiş ürünler gibi gerek yağ oksidasyonuna gerekse mikroorganizmalara karşı dayanıklılık gösterirler. Bugün dünyada et ürünlerinin odun dumanıyla direkt olarak teması ile uygulanan doğal tütsülemenin yerine hava kirliliği problemini minimize eden ve potansiyel karsinogenik maddeler olan polisiklik aromatik hidrokarbonları (PAH) hiç içermeyen ya da iz miktarda içeren sıvı tütsü flavorları almaya başlamıştır. Hindistan cevizi kabuğundan elde edilen sıvı tütsünün (CSLS) de fenoller, karboniller ve organik asitler gibi biyoaktif bileşenler içerdiği bildirilmiştir. Hindistan cevizi kabuğu genellikle hindistan cevizi eti işlemenin atık ürünü olarak görülür. Endüstride, geleneksel pazar yerlerinde ve evlerde bol miktarda hindistan cevizi kabuğu bulunur. Sıvı tütsünün antimikrobiyal, renklendirme ve lezzetlendirme özellikleri, yenilebilir filmler için ilgi çekici bir katkı maddesi olmasını sağlar. CSLS'nin kolay uygulanabilir olması, ürüne eklenecek miktarının kontrol edilebilir olması, çevreci olması ve PAH gibi zararlı bileşenleri içermemesi avantajlı yönleri arasındadır. Bu avantajlı yönleri nedeniyle, hindistan cevizi kabuğu sıvı tütsüsünün (CSLS) proteinli gıda ürünlerinin raf ömrünü uzatma potansiyeli bulunmaktadır (Zuraida ve ark., 2011).

Gıda ambalajlarından dolayı çevreye bırakılan sentetik polimer atığı miktarını azaltmaya yönelik stratejilerden biri, yenilebilir film kullanmaktır. Antimikrobiyal bileşenleri doğrudan gıdaya karıştırmak yerine filmlere ilave etmek, mikrobiyal gelişimin daha fazla olduğu gıda yüzeyinde fonksiyonel etki sağlar (Coma, 2008). Polisakkarit filmler ve kaplamalar, dehidrasyonu, oksidatif acılaşmayı ve yüzey kahverengileşmesini engelleyerek et ürünlerinin ömrünü uzatmak için kullanılabilir. Nişasta, biyobozunur filmlerin ve yenilebilir kaplamaların formülasyonlarında kullanılan en önemli polisakkarittir (Chiumarelli ve ark., 2011). Nişasta filmler

genellikle saydam veya yarı saydam, kokusuz, tatsız, renksiz ve düşük-orta bağıl nemlilik koşullarında O₂'ye karşı düşük geçirgenliğe sahiptir (Janjarasskul ve Suppakul, 2018). Nişasta bileşikleri amiloz ve amilopektin olmak üzere iki bileşenden oluşur. Amiloz yenilebilir filmin yapışkanlığını etkilerken amilopektin yenilebilir filmin kararlılığını etkilemektedir (Wittaya, 2012). Zencefil (*Zingiber officinale*) çoğunlukla Hindistan'da olmak üzere tıbbi amaçlarla kullanılmak için üretilen popüler bir baharattır. Çin, Endonezya ve Nijerya gibi tropikal ve alt tropikal bölgelerde de sıklıkla üretilir. Zencefil kök sapları yaklaşık %11,4 nişasta içerir; amiloz içeriği (%18-30), patates nişastasıninkine yakınsken manyok nişastasınından yüksektir.

Nanoteknolojinin gıda alanında kullanımı gün geçtikçe artış göstermektedir. Gıdaların besin değerini koruyarak raf ömrünü güvenli biçimde artırmayı hedefleyen nano ambalaj malzemeleri geliştirilmesi konusunda araştırma ve geliştirme faaliyetleri devam etmektedir. Son yıllarda, patojen ve bozulma yapan mikroorganizmalara karşı gıda muhafazasında doğal antimikrobiyal özellik gösteren biyoaktif bileşiklerin nanoemülsiyon halinde kullanımına yönelik araştırmalara olan ilgi artmıştır. Biyoaktif bileşenler uygun bir taşıma sistemi ile enkapsüle edildiğinde diğer gıda bileşenleri ile etkileşimleri önlenerek aktif maddelerin fiziksel kararlılığı da artırılmış olmakta ve gıdaya kontrollü salınımları gerçekleştirilebilmektedir. Bu şekilde elde edilen nanokompozit filmler (nanokompozitler) meyve-sebze, et ve et ürünleri, deniz ürünleri ve şekerleme sektöründe geniş kullanım alanı bulmaktadır. Nanokompozit ambalajlama ile bu ürünlerde mekanik özellikler, stabilite, ısıl performans, gaz bariyer özellikleri, yüzey görünümü ve optik özellikler iyileştirilebildiği gibi ürünün tazeliği ve besleyici niteliği de uzun süre korunabilmektedir. Yenilebilir nanokompozit ambalajların olası avantajları ile üreticilerden ve tüketicilerden kabul göreceği, geleneksel ambalajların yerini alabileceği düşünülmektedir.

Isıl olmayan yöntemlerden biri olan ultrases tekniği mikroorganizmaların ve enzimlerin inaktivasyonunda, biyoaktif nitelikteki bileşiklerin gıda matrisinden ekstrakte edilmesinde, emülsifikasyon, kristalizasyon gibi çeşitli işlemlerde kullanılmaktadır. Gıda teknolojisinde ise ilk olarak 1927 yılında su-yağ emülsiyonu sağlanmasında kullanılmıştır. Ultrasonik emülsifikasyonda, ultrasonik dalgalar,

makroemülsiyonu nanoemülsiyona parçalayan kavitasyon kuvvetleri üretir. Ultrasonikasyon, ilaç ve gıda bileşenlerinin nanoemülsiyonlarını üretmek için geniş çapta kullanılmaktadır. Ultrasonikasyonla elde edilen nanoemülsiyonlar daha yüksek kararlılığa ve daha küçük damlacık büyüklüğüne sahiptir. Emülsiyon damlacıklarının partikül boyutundaki küçülmenin filmlerin mekanik ve su bariyeri özelliklerini artırdığı ve yapısal özelliklerini iyileştirdiği bildirilmiştir (Otoni ve ark., 2016).

Sıvı tütsünün gıdalarda direkt kullanımına yönelik oldukça fazla sayıda araştırma olmasına karşın sıvı tütsünün yenilebilir film formulasyonlarında kullanımına yönelik literatürde oldukça sınırlı sayıda araştırma bulunmaktadır (Wang ve ark., 2016; Soazo ve ark., 2016, Piccirilli ve ark., 2019). Tez konusu olan ultrases işlemi uygulanmış Hindistan cevizi kabuğu sıvı tütsüsü (CSLS) içeren zencefil nişastası temelli yenilebilir filmler ve bu filmlerin gıda üzerine uygulamasına yönelik herhangi bir araştırma bulunmamaktadır. Buradan hareketle, mevcut tez çalışması ile (1) CSLS'nin farklı konsantrasyonlarının ilavesiyle formüle edilmiş zencefil nişastası temelli nano yenilebilir filmlerin mikrobiyolojik ve fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi ve (2) CSLS ilave edilmiş filmlerin, sığır eti kıymasının soğuk depolanması süresince kimyasal özellikleri, duyu özellikleri ve *E. coli* O 157:H7 inhibisyonu üzerine etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Nanoteknoloji ve Gıda Alanında Nanoteknoloji Uygulamaları

Nanoteknoloji, gıda sanayisi için gelişmekte olan ve büyük potansiyele sahip bir teknolojidir. Nanoteknoloji, 100 nm'den daha küçük biyolojik ve biyolojik olmayan yapıların karakterizasyonu, yapımı ve işlenmesi üzerinde yoğunlaşmış bir tekniktir. Nanoteknolojinin gıda alanında kullanımı gün geçtikçe artış göstermektedir. Gıdaların besin değerini koruyarak raf ömrünü güvenli biçimde artırmayı sağlayan ambalaj malzemeleri geliştirilmesi konusunda araştırma ve geliştirme faaliyetleri devam etmektedir. Araştırma ve geliştirme çalışmalarında nanoteknolojiden de yararlanılmaktadır. Antimikrobiyal özellik için geliştirilmiş enkapsülasyon sistemleri içinde nanoenkapsülasyon sistemler gıdayı muhafaza etme ve enkapsüle edilmiş antimikrobiyal maddeyi mikroorganizmaların faaliyet gösterdiği bölgelere ulaştırmada daha etkilidir. Bu nanoenkapsülasyon sistemler, nanoemülsiyonlar, yüzey aktif madde miselleri, fosfolipid lipozomlar ve katı-lipid nanopartiküller şeklinde olabilmektedir. Son yıllarda, patojen ve bozulma yapan mikroorganizmalara karşı gıda muhafazasında doğal antimikrobiyal özellik gösteren biyoaktif bileşiklerin nanoemülsiyon halinde kullanımına yönelik araştırmalara olan ilgi artmıştır. Biyoaktif bileşenler uygun bir taşıma sistemi ile enkapsüle edildiğinde diğer gıda bileşenleri ile etkileşimleri önlenerek aktif maddelerin fiziksel kararlılığı da artırılmış olmakta ve gıdaya kontrollü salınımları gerçekleştirilebilmektedir. Bu şekilde elde edilen nanokompozit filmler (nanokompozitler) meyve-sebze, et ve et ürünleri, deniz ürünleri ve şekerleme sektöründe geniş kullanım alanı bulmaktadır (Imran ve ark., 2010). Nanokompozit ambalajlama ile bu ürünlerde mekanik özellikler, stabilite, ısı performans, gaz bariyer özellikleri, yüzey görünümü ve optik özellikler iyileştirilebildiği gibi ürünün tazeliği ve besleyici niteliği de uzun süre korunabilmektedir. Nanokompozitlerin yapısında bulunan nanomateryaller; bariyer

özelliklerini geliştirmede, bileşikleri absorbe etmede, gıdaların raf ömrünün uzatılmasında, ince filmler olarak esnek paketlenmede, antimikrobiyal ve nanosensör (sıcaklık, nem, ışık, çökeltme) olarak ambalajlamada kullanılmaktadır (Rhim ve ark., 2013). Nano film ve kaplamalar, ambalaj sektöründe sağladığı önemli avantajlar ile geleneksel ambalajların yerini almakta ve birçok yeni çalışmanın da konusu olmaktadır. Yenilebilir nanokompozit ambalajların olası avantajları ile üreticilerden ve tüketicilerden kabul göreceği, geleneksel ambalajların yerini alabileceği düşünülmektedir.

2.1.2. Nanoemülsiyonlar

Emülsiyonlar üzerine uzun yıllardır araştırmalar yapılmaktadır. Bu yapılar gıda endüstrisinde kullanılmaktadır. Emülsiyon, birbiri içinde çözünmeyen veya kısmi olarak çözülen iki sıvıdan (su ve yağ) birinin diğeri içerisinde damlacıklar halinde dağılmasıyla oluşan karışımdır. Emülsiyon içeriğinin oluşabilmesi için su fazı, yağ fazı ve yüzey aktif madde olmak üzere minimum üç bileşene ihtiyaç vardır. (McClements, 2011).

Nanoemülsiyonlar ise bu dağılmış halde bulunan damlacık çaplarının ortalama 50-200 nm olduğu, nano boyutta yapılar olarak tanımlanabilir (Chen ve ark., 2006; Gökmen ve ark., 2012; Saka ve Terzi Gülel, 2015). Fazlara bağlı olarak, su içinde yağ (y/s) ve yağ içinde su (s/y) olmak üzere iki çeşit nanoemülsiyon mevcuttur. Yağ/su nanoemülsiyon sistemi, antioksidan ve antimikrobiyal etkileri olan farklı lipofil maddelerin hidrofil bir polimerik matrise eklenmesini sağlar ve bu yüzden yenilebilir kaplama ve film üretiminde tercih edilir (Öztürk, 2017; Montes De Oca-Ávalos ve ark., 2017). Nanoemülsiyonlar sayesinde; besin öğelerinin ve aktif bileşenlerin vücutta kontrollü salınımını sağlamak mümkün hale gelmektedir. Bunu sağlayabilmek için nanoemülsiyonların oluşum mekanizmaları ve yapılarının iyi bilinmesi gerekir (İlyasoğlu ve El, 2010). Gıda makromoleküllerinden oluşturulan nanoemülsiyonlar uzun yıllardır araştırılmakta ve farklı amaçlarla gıda alanlarında kullanılmaktadır. Nanoemülsiyonlar vasıtasıyla aroma, renk ve besin öğeleri eklenerek duyuusal ve teknolojik özellikleri geliştirilmiş yeni ve fonksiyonel gıda ürünleri tasarlanıp

üretilebilmiştir. Yine nanoemülsiyonların vasıtasıyla hidrofilik maddelerin yağda, lipofilik maddelerin ise suda çözünür hale getirilip çeşitli biyoaktif maddelerin su veya meyve içecekleri içinde dağılımını sağlanması ve biyoyararlığı arttırdığı görülmektedir (Becher ve Fishman, 1959; Tarhan ve ark., 2016; Çınar, 2017). Bu yapılar nano-emülsifiye edilmiş biyoaktif maddelerin ve aromaların, ürün görünümünde bir değişiklik yapmadan içeceklere eklenmesini sağlar. Emülsiyon teknolojisi genellikle kapsülleme için uygulanır (Ezhilarasive ark., 2013). Bu parçacıklar lipofilik özellikte olan iç kabuğun üzerine tek kat halinde sıralanan fosfolipitlerin arayüzey oluşturması sonucu onları çevreleyen sıvı faz içerisinde tutunmalarıyla oluşurlar. Nanoemülsiyonlar bulundukları nanodamlacıklarla, fonksiyonel ve biyoaktif özelliklerdeki ürünlerin enkapsülasyonu ve taşınmasının sağlanması için geliştirilen en önemli iletim sistemlerinden birisidir (Nakajima, 2006; Mason ve ark., 2006; Tarhan ve ark., 2016). Nanoemülsiyonların yağ fazları tamamen biyoaktif lipitlerden (esansiyel yağlar, vitamin vb.) veya içindeki lipofil bileşenlerin ilk olarak yağda çözüldüğü yağlı çözeltilerden (mısır, soya, ayçiçeği, zeytin vb.) oluşabilir. Nanoemülsiyonların içerdiği lipofil bileşenlere örnek olarak biyoaktif, tatlandırıcı, antimikrobiyal, antioksidan ve nutrasötik lipitler verilebilir (Silva ve ark., 2012). Yağ damlacıklarının büyüklüklerini nano büyüklüğe düşürmenin olası avantajlarından biri, çevreleyen su fazı içindeki biyoaktif lipitlerin çözünürlüğünü artırmasıdır ki bu da biyoaktiviteyi artırmaktadır (McClements ve ark., 2007; McClements, 2015). Nanoemülsiyonlara eklenebilecek lipofil malzemeler, bitkilerden elde edilen esansiyel yağları kekik, adaçayı, karanfil, nane, limonen vb.), yağ asitlerini (ω -3 yağ asitleri, konjuge linoleik asit, bütirik asit vb.), karotenoidleri (β -karoten, likopen, lütein, zeaksantin vb.), antioksidanları (tokoferoller, flavonoidler, polifenoller vb.), fitosteroller (stigmasterol, β -sitosterol, kampesterol vb.) ve kinonları (koenzim Q10) içerir (Quintanar-Guerrero ve ark., 2012). Üstün özelliklere sahip oluşları ve polimerik matrislere eklenmeleriyle aktif bileşenlerin salınımı üzerinde daha çok kontrol sağladıkları için, yenilebilir film hazırlamada nanoemülsiyonların kullanımı yakın zamanda daha fazla araştırma konusu olmaya başlamıştır.

Nanoemülsiyonların önemli sistemlerden biri olarak görülmesinin nedenlerinden biri yapılarını oluşturan ve saydam görünmesini sağlayan nano damlacıklar vasıtasıyla

sedimentasyon ve kreleşmeyi engelleyerek biyoaktif ürünlerin taşımınının gerçekleştirilmesi amacı gütmektedir. Nanoemülsiyonlar üründe görünüm kazandırmakla birlikte nanokapsülleme aracılığı ile yağların biyoyararlılığını ve yağda çözünebilen besinlerin sindirimini artırmaktadır. Bağırsakta biyoyararlılığı çok düşük olan koenzim Q10'ın (CoQ10) emülsifiye edilmiş formlarının kullanımı ile biyoyararlılığı önemli ölçüde artırdığı belirlenmiştir. β -karoten içeren nanodispersiyonların kullanımı ile karotenoidlerin sindirim sisteminden geçişleri süresince suda çözünmelerinin ve biyoyararlığın artırıldığı bildirilmiştir. E vitamini yağda çözünür özellikte olmasından dolayı meyve sularına katıldığında ürünün görünümünü olumsuz etkiler. Bu olumsuzluğun giderilmesi için nanoemülsiyonlar kullanılarak meyve sularının daha berrak olması sağlanmaktadır (Chen ve Wagner, 2004; Zülfi ve ark., 2006; Saka ve Terzi Gülel, 2015).

2.1.3. Nanoemülsiyon üretimi

Nanoemülsiyon hem yüksek enerjili hem de düşük enerjili yöntemlerle hazırlanabilir. Yüksek enerjili yöntemler, yüksek basınçlı homojenizasyon, mikroakışkanlaştırma ve ultrasonikasyonu içerirken düşük enerjili yöntemler, faz dönüşümü emülsifikasyon yöntemi ve kendiliğinden nano emülsifikasyon yöntemini içerir. Daha az enerji tüketmeleri, daha verimli olmaları ve sofistike ekipman gerektirmemeleri ile düşük enerjili yöntemler, yüksek enerjili yöntemlere tercih edilmelidir; fakat yüksek enerjili yöntemler gıdada kullanılabilir emülsiyon üretimi için tercih edilebilir, çünkü düşük enerjililere göre daha az yüzey aktif madde kullanılır. Yüksek enerjili yöntemlerde güçlü yıkıcı kuvvet sağlayan yüksek mekanik enerji kullanılır. Bu kuvvetler, büyük damlacıkları nano büyüklükte damlacıklara ayırır ve yüksek kinetik enerjiye sahip nanoemülsiyonlar üretir. Yıkıcı kuvvetler, ultrasonikatör, mikroakışkanlaştırıcı ve yüksek basınçlı homojenizatör gibi mekanik cihazlar tarafından oluşturulur (Gonçalves ve ark., 2018; Gharibzahedi ve ark., 2019).

Isıl olmayan yöntemlerden biri olan ultrases tekniği, gıda işlemede hücre parçalanması ve ekstraksiyon amacıyla çok yönlü olarak kullanılan basit bir yöntemdir. Aynı zamanda güvenli ve verimli bir gıda işleme tekniği olarak kabul görmektedir.

Uygulama maliyetinin düşük olması, pastörizasyon ve sterilizasyon gibi ısısal işlemlere göre ise gıdaların fizikokimyasal özelliklerine daha az zarar vermesi, tat ve koku gibi duyuşsal özellikler üzerine etkisinin sınırlı olması, çevre dostu bir teknoloji olması ultrases yönteminin tercih sebebi olmasını sağlayacak özellikleri arasında sayılabilir. Gıda teknolojisinde ise ilk olarak 1927 yılında su-yağ emülsiyonu sağlanmasında kullanılmıştır (Yazdanbakhsh, 2021). Genel anlamda ultrases, frekansı 20 kHz'den daha büyük olan akustik dalgalar olarak tanımlanmaktadır. Bu teknolojinin 'düşük şiddetli' ve 'yüksek şiddetli' olmak üzere 2 farklı uygulaması söz konusudur. Düşük şiddetli ultrases, yüksek frekansta (0.1-100 MHz) ancak düşük güçte ($<1 \text{ W/cm}^2$) bir uygulama olup daha çok gıdaların fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla kullanılmaktadır. Buna karşın yüksek şiddetli ultrases ise, düşük frekansta (20-100 kHz) ve yüksek güçte ($10-1000 \text{ W/cm}^2$) bir uygulama olup, mikroorganizmaların ve enzimlerin inaktivasyonunda, biyoaktif nitelikteki bileşiklerin gıda matrisinden ekstrakte edilmesinde, emülsifikasyon, kristalizasyon gibi çeşitli işlemlerde kullanılmaktadır (Zhang ve ark., 2005).

Ultrases mekanik titreşim, akustik dalga ve akustik kaviteşyon olmak üzere üç temel etki meydana getirmektedir. Bu etkilerden, mekanik titreşim ve akustik dalga kaviteşyonel olmayan fiziksel etkilerdir. Akustik kaviteşyon, ultrases uygulamalarında ana etki olup sıvı içerisindeki mevcut mikro baloncukların büyümesi ve daha sonra patlaması ile açığa çıkan etkidir. 'Akustik Kaviteşyon' olgusu üç farklı durumu kapsamaktadır (Schneider ve ark., 2006). Kırılım periyodu olarak adlandırılan birinci aşamada, sıvı içerisindeki mevcut çekirdek halindeki gaz molekülleri kaviteşyon baloncuklarını oluşturmaktadır. Bu oluşan kaviteşyon baloncukları eşik bir değere ulaşınca kadar büyümekte ve sonunda şiddetli bir şekilde çökmektedir. Bu çökme sırasında kaviteşyon zonu içerisinde aynı zamanda güçlü bir hidrodinamik kesme gücü, 100 MPa'a varan bir yüksek basınç ve 5000 K düzeyine çıkabilen bir sıcaklık meydana gelmektedir. Ultrasonik emülsifikasyonda, ultrasonik dalgalar, makroemülsiyonu nanoemülsiyona parçalayan kaviteşyon kuvvetleri üretir. Bu yöntemde, ultrasonik dalgalar yayan bir probdan oluşan ultrasonikatörler kullanılır. Ultrasonik enerji girişini ve süresini değiştirerek istenilen partikül büyüklüğü ve nanoemülsiyon kararlılığı elde edilebilir (Jayasooriya ve ark., 2004). Kaviteşyon,

mikro baloncukların oluşması, büyümesi ve takiben, akustik dalganın basınç dalgalanmalarından dolayı baloncukların çökmesini içeren bir olgudur. Mikro baloncukların çökmesi yoğun bir türbülans oluşturur ve bu da nano büyüklüğünde damlacıkların oluşmasına neden olur. Ultrasonik emülsifikasyonun verimliliğinin, ultrasonikasyon yoğunluğuna, süresine ve kullanılan yüzey aktif maddenin yapısına bağlı olduğu bildirilmiştir. Ultrasonikasyon, ilaç ve gıda bileşenlerinin nanoemülsiyonlarını üretmek için geniş çapta kullanılmaktadır. Ultrasonikasyonla elde edilen gıdada kullanılabilir nanoemülsiyon daha yüksek kararlılığa ve daha küçük damlacık büyüklüğüne sahip olmasının yanı sıra diğer yüksek enerjili yöntemlere göre daha az enerji girişine ihtiyaç duyar (Tiwari ve ark., 2006; Ghosh ve ark., 2013; Salvia-Trujillo ve ark., 2014).

2.1.4. Gıda ambalajlamada nanoteknoloji kullanımı

Gıda ambalajlamanın ana işlevi; depolama ve taşıma sırasında gıda ürünlerinin kalite ve güvenliğini sürdürmek ve bozulma, mikroorganizmalar, kimyasal kontaminantlar, oksijen, nem, ışık, dış kuvvetler vb. gibi istenmeyen faktörlerin veya koşulların önüne geçerek gıda ürünlerinin raf ömrünü uzatmaktır. Ambalajlama malzemeleri, bu işlevleri yerine getirebilmek için fiziksel koruma sağlamasının yanı sıra tatmin edici bir raf ömrü elde edilmesi ve gıda kalitesi ve güvenliğinin sürdürülmesi için uygun fizikokimyasal koşulları yaratır. Gıda ambalajı, ambalaj malzemelerinin mekanik, optik ve termal özellikleri gibi temel özelliklerine ek olarak nem kaybı ya da artışını engellemeli, mikrobiyal kontaminasyonu önlemeli ve su buharı, oksijen, karbon dioksit karşı bariyer olarak işlev görmelidir (Marsh ve Bugusu, 2007; Rhim ve ark., 2013).

Son yıllarda minimum işlem görmüş gıdalara olan ilginin artması ve tüketici talep ve isteklerinin farklılaşmasıyla beraber gıda sektöründe yeni ambalajlama yöntemleri araştırılmaya başlanmıştır. Tüketici isteklerine ek olarak gıda paketlemesinin geliştirilmesinde plastik malzeme engelleri, fonksiyonel özellik sunabilen aktif bileşenlerin dahil edilmesi, konvansiyonel aktif ambalajların dışındaki özellikleri ve bunların algılanması ve işaretlenmesi ile ilgili konular etkili olmaktadır (Sekhon, 2010;

Karahalil, 2012). Ambalajlama sektöründeki gelişmelerle birlikte ambalaj materyalleri sadece gıdayı korumak amacıyla değil aynı zamanda tüketicuyu bilgilendirme ve tüketici beğenisi de göz önüne alınarak üretilmeye başlanmıştır (Polat ve Fenercioğlu, 2014). Ambalaj üreticileri gıdayı daha uzun süre taze tutmayı amaçlamaktadır. Tüketiciler ise gıdanın taze olduğunu paketi açmadan görmek istemektedir. Teknolojinin ilerlemesiyle bu isteklerin her ikisini de nanoteknolojik çalışmalar ile elde etmek mümkün hale getirilebilmektedir (Sürengil, 2011). Yalnızca gıdayı korumayı hedefleyen pasif ambalajlar yerine aktif ve akıllı ambalajlar, gıdanın özelliklerini iyileştiren ve çevreye verilen zararı azaltan ambalaj materyalleri dikkat çekmeye başlamıştır (Karahalil, 2012; Polat ve Fenercioğlu, 2014). Gıda ambalajlama sektöründe nanoteknoloji kullanılmasının temel amacı ambalajın bariyerlerini geliştirmek, nem ve gaz alışverişini en aza indirmek, ultraviyole (UV) ışınlarla gıdanın temas etmesini engelleyerek ürünün raf ömrünü arttırmaktır. Bu kapsamda yenilebilir film ve kaplamalar, modifiye atmosfer paketleme sistemleri, aktif ve akıllı ambalaj materyalleri üzerinde çalışmalar yapılmaktadır (Yalçın, 2010).

Gıda ambalajlamada en çok kullanılan malzemelerden biri plastiktir. Plastiklerin çevreye verdiği zararların azaltılması için, söz konusu malzemelere biyobozunur özellik kazandırmak amacıyla çeşitli çalışmalar yapılmaktadır (Irmak Şahin ve Akpınar Bayazit, 2008; Kılınç ve ark., 2017). Bertaraf yöntemleri sınırlı olduğu için kalıcı plastik ambalaj atıklarının çevresel etkisi dünya çapında endişeye neden olmaktadır. Biyobozunur olmayan plastik ambalaj malzemelerinin neden olduğu çevresel yük, doğal kaynak tüketimi ve gıda güvenliğine dair giderek artan endişelerin dile getirilmesi, sentetik plastik ambalaj malzemelerine alternatif olarak, özellikle tek kullanımlık çatal-bıçak, tabak, mutfak eşyaları ve bebek bezleri, çöp poşetleri, içecek kapları, fastfood kapları ve tıbbi cihazlar vb. gibi kısa süreli ambalajlama ve tek kullanımlık uygulamalarda, yenilenebilir kaynaklardan (biyopolimerler) elde edilen biyobozunur ambalaj malzemelerine olan talebi artırmıştır (Bordes ve ark., 2009). Biyobozunur malzemeler ideal olarak, genellikle biyopolimer olarak adlandırılan, olağan üstü mekanik ve bariyer özelliklerine sahip, ömürleri sonunda biyobozunabilen, yenilenebilir biyolojik kaynaklardan elde edilir. Biyopolimerler,

biyobozunur olmayan ve yenilenemeyen plastik ambalaj malzemeleri yerine potansiyel bir çevre dostu alternatif olarak düşünülmektedir (Imran ve ark., 2010).

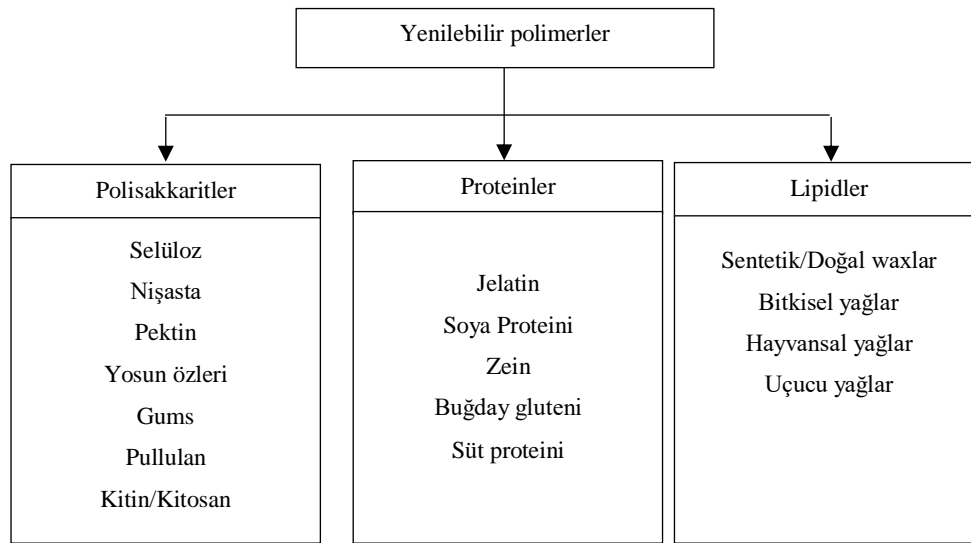
Biyobozunur ambalaj materyalleri, plastik ambalajların aksine, kullanım ömürlerini tamamladıktan sonra doğada çözünerek çevre kirliliğini önlemekte ve geride doğaya zararlı ya da zehirli maddeler bırakmamaktadırlar. Çünkü bu malzemelerin üretiminde nişasta, selüloz, protein gibi doğal kaynaklardan elde edilen yapılar kullanılmaktadır (Kılınç ve ark., 2017). Biyobozunur malzemelerin biyolojik olarak bozunması karbon içeren kimyasal bileşiklerin canlı organizmalar tarafından salgılanan enzimle ayrışmasıdır. Bozulma sırasında sıcaklık, nem ve mikroorganizma türü önemlidir (Kılınç ve Sürengil, 2011). Ambalaj malzemelerine nano parçacık eklenerek oluşturulan nanokompozit filmler meyve-sebze, et ve et ürünleri, deniz ürünleri ve şekerleme sektöründe geniş kullanım alanları oluşturulabilmektedir. Nanokompozit kullanımı ambalajın bariyer ve optik iyileştirmesinin yanı sıra mikroorganizma gelişimini inhibe ederek ürünün raf ömrünü uzatmaktadır (Irmak Şahin ve Akpınar Bayizit, 2008). Nanokompozit malzemeler oksidasyon stabilitesini sağlar. Polimerlere nanokompozit eklenmesi ile ürünlerde ısıl performans, esneklik, dayanıklılık ve ısı/nem stabilitesi sağlanır. Aynı zamanda kullanılan bu nanoparçacıklar ambalaj malzemesini hafif, yırtılmaz ve ısıya dayanıklı hale getirir (Sürengil, 2011). Bu özelliklerinden yararlanarak örneğin akıllı etiketler oluşturularak depolama ve ulaşım sırasında gerekli sıcaklıkta muhafaza edilmediği ile ilgili renk oluşumu sağlayarak, tüketiciye haber vermektedir. Yine nanokompozit yapıda ince filmler esnek paketleme de kullanılmaktadır (Irmak Şahin ve Akpınar Bayizit, 2008). Ayrıca paketlemedeki avantajlardan kaynaklı raf ömrünün uzatılması katkı maddesi eklenmesini azaltmış bulunmaktadır. Bu bağlamda insan sağlığı açısından çok önemli bir yere sahip olan nanokompozitler, plastik yapılarına katılarak plastik kullanımını azaltması ve doğada çözünebilmesi ile de çevre için faydalar sağlamaktadır. Düşük maliyetle işlevselliği arttırmak nanokompozit madde kullanımının amaçlarından biridir (Doyle, 2006; Sekhon, 2010).

2.1.4.1. Yenilebilir film

Biyobozunur polimerler tarımsal hammaddelerden, hayvansal veya mikrobiyal kaynaklardan elde edilmektedir. Yenilenebilir hammaddelere ek olarak bu ambalaj malzemelerinde, karbondioksit ve kaliteli gübre gibi çevre dostu biyolojik kaynaklı ürünler de kullanılmaktadır (Saka ve Terzi Gülel, 2015). Gıda ambalajlamada biyopolimerlerin kullanımıyla plastik bazlı ambalajlara bağımlılık azalmakta ve yenilenebilir tarımsal kaynakların kullanılması mümkün hale gelmektedir. Biyopolimer kategorisinde değerlendirilen polisakkaritler (nişasta, pektin), proteinler (peynir altı suyu, kazein), mum ve yağlardan (yağ asidi) üretilen yenilebilir film ve kaplamaların kullanımı gün geçtikçe artmaktadır (Irmak Şahin ve Akpınar Bayizit, 2008; Saka ve Terzi Gülel, 2015). Biyobozunur ambalaj materyalleri neme, su buharına, gazlara ve çözünen maddelere karşı bariyer görevi görmelerinin yanı sıra aynı zamanda bazı aktif maddelerin taşıyıcısı olarak da görev yapmaktadırlar. Ayrıca antioksidanlar, antifungal ajanlar, antimikrobiyaller, renk maddeleri ve diğer gıda bileşenleri gibi büyük bir katkı çeşidinin birleştirilmesi için mükemmel araçlardır. Doğal biyopolimerler yenilenebilir olmasının yanında biyolojik olarak parçalanması nedeniyle sentetik polimerlerden daha avantajlıdır. Biyopolimer bazlı antimikrobiyal filmler özellikle et, balık, tavuk ürünleri, tahıl, peynir, meyve ve sebze ürünlerinin ambalajlanmasında kullanım potansiyeline sahiptir (Bumbudsanpharoke ve Ko, 2015).

Biyolojik olarak çözünür materyallere dayanan yenilebilir film ve kaplama konusu, gıda ambalaj sektöründeki potansiyel kullanımı nedeni ile son yıllarda bilim insanları tarafından dikkat çeken bir konudur (Candan ve Bağdatlı, 2018). Bu yapılar gıda kalitesini korumak, depolama süresini uzatmak ve mikrobiyal bozulmayı önlemek amacıyla ortaya çıkmıştır (He ve Hwang, 2016). Antimikrobiyal yenilebilir filmler ürün yüzeyine uygulanan yenilebilir özellikte polimerlerden elde edilen ince film tabakalarıdır. Yenilebilir filmler, polisakkaritler, proteinler ve lipitler olarak sınıflandırılan yenilebilir polimerlerden elde edilir. Yenilebilir film yapımında sıklıkla kullanılan yenilebilir filmlerin listesi, Şekil 2.1.'de verilmiştir. Polisakkaritler daha iyi gaz bariyerleridir fakat su buharı bariyeri olarak zayıftır. Proteinler de zayıf su bariyeri

özelliği göstermelerine karşın daha iyi mekanik dayanıma sahiptir. Polimer türü (polisakkaritler, proteinler, lipitler) ve miktarının uygun şekilde seçildiği yenilebilir kompozit filmler, gelişmiş film özellikleri elde etmek için üretilebilir (Jeevahan ve Chandrasekaran, 2019). Polisakkarit ise ürünlerde oksidatif bozulmayı ve yüzeyde oluşan kararmayı ve dehidrasyonu önemli ölçüde düşürdüğü için meyveler, sebzeler, deniz ürünleri ve et ürünlerinin raf ömrünü uzatmaktadır.



Şekil 2.1. Yenilebilir polimerler (Rhim ve ark., 2013).

Nişasta, düşük maliyette olması, kolay elde edilebilmesi ve iyi film oluşturma özelliği nedeniyle yenilebilir film ve kaplama üretiminde kullanılmaktadır. Nişasta bazlı yenilebilir filmlerin en önemli özelliği yapısal olarak dayanıklı olmaları, tatsız, kokusuz ve şeffaf olmaları ve oksijen geçişini yavaşlatmalarındır. Buna karşın filmlerin su geçişine karşı dirençleri oldukça düşüktür (Tural ve Turhan, 2017). Filmlerin bu özelliklerinin üstesinden gelebilmek için, nişastayı, lipitler (Jiménez ve ark., 2012a; Ortega-Toro ve ark., 2014a), organik (Curvelo ve ark., 2001; Muller ve ark., 2009; Cano ve ark., 2014) veya inorganik dolgular (Carvalho ve ark., 2001; Avella ve ark., 2005) ve diğer hidrokoloitler (Jiménez ve ark., 2012 b,c; Ortega-Toro ve ark., 2014b) gibi farklı bileşenlerle karıştırmayı içeren stratejiler düşünülmüştür. Polimerin uyumluluğunu artırmak ve film özelliklerinin iyileştirilmesi için farklı polimer kullanımları (Ortega-Toro ve ark., 2014b) ve nişasta modifikasyonlarının (Kaur ve ark., 2012) kullanımı da test edilmiştir. Aktif filmler elde etmek üzere, antimikrobiyal veya antioksidan özelliklere sahip biyoaktif bileşenlerin ilavesi, nişasta ve nişasta

karışımli filmler için de araştırılmıştır (Pyla ve ark., 2010; Zhong ve ark., 2011; Bonilla ve ark., 2013; Jiménez ve ark., 2013; Fabra ve ark., 2014). Aktif filmler, gıda endüstrisi ve tüketiciler için umut vaat etmektedir.

Angellier ve ark. (2006), darı nişastası nanokristalleri ile desteklenmiş darı nişastasından elde edilmiş yenilebilir filmler üzerine depolamanın etkilerini incelemiştir. İki haftalık depolama boyunca darı nişastası nanokristalleri ile desteklenmiş yenilebilir filmlerin mekanik özellikleri kayda değer oranda değişmiştir. Depolama, gerilme direnci (TS) ve Young modülünü (YM) artırmış ve kopma anındaki uzama yüzdesini (%EAB) düşürmüştür. Ağırlıkça %10'dan fazla nanokristal varlığı, yüksek YM ve TS ile sonuçlanırken, % uzama %20 civarında neredeyse sabit kalmıştır. Shi ve ark. (2013), nişasta nanopartikülleri yüklenmiş mısır nişastası temelli yenilebilir filmler üretmiş ve kurutma yöntemlerinin bu filmlerin fiziksel ve mekanik özellikleri üzerindeki etkisini belirlemişlerdir. Nanopartiküllerin üretiminde, yüksek basınçlı homojenizatör yardımıyla emülsiyon çapraz bağlama yöntemi ve onu takiben sprey kurutma ve vakum dondurma olmak üzere iki kurutma tekniği kullanılmıştır. Sonuçlar, mısır nişastası filmlerine iki farklı kurutma yöntemiyle hazırlanmış nişasta nanopartikülleri ilavesinin, kontrol filmlerine kıyasla yüzey pürüzlülüğünü artırdığını ve kristallik derecesini %23, su buharı geçirgenliğini %44 camsı geçiş sıcaklığını ise 4,3°C azalttığını göstermiştir. Kurutma yöntemi sadece nişasta filmlerinin opaklığını etkilemiştir. Vakum dondurma ile kurutulmuş nanopartikül içeren nişasta filmlerinin opaklığı, püskürtme ile kurutulan nişasta nanopartiküllerini içeren nişasta filmlerine (23.965 AU nm) kıyasla daha yüksek bulunmuştur (30.499 AU nm). Benzer bir çalışmada pirinç nişastası temelli içinde pirinç nişastası nanokristalleri dağılmış (%5'ten %30'a kadar) film hazırlanmış ve pirinç nişastası nanopartikülleri ilavesinin mekanik özellikleri iyileştirdiği belirlenmiştir (Piyada ve ark. (2013). Li ve ark. (2015), nişasta nanokristalleri yüklü bezelye nişastasından yenilebilir kompozit filmleri üretmiş ve nişasta nanokristalleri konsantrasyonlarının (%1-9) su buharı geçirgenliği ve mekanik özellikler üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Araştırma sonuçları, nem içeriği ve su buharı geçirgenliği anlamlı seviyede düşerken, TS ve YM'nin %5'e kadar artan nişasta nanokristalleri konsantrasyonlarıyla arttığını göstermiştir. %5'e kadar nişasta nanokristalleri içeren filmler pürüzsüz ve yoğun

yüzeyler oluşturmuştur. Ancak, %7 üzerinde nişasta nanokristali konsantrasyonlarıyla üretilen kompozit filmlerde, nişasta nanokristalleri kümелendikçe film yüzeyinde boylamasına lifli yapılar oluşmuştur. Dai ve ark. (2015), taro nişastası nanopartiküllerinin farklı oranları (%0,5-15) ile desteklenmiş mısır nişastasından nano yenilebilir film üretmiştir. Sonuçlar, taro nişastası ilavesinin, filmlerin su buharı geçirgenliğini, TS (1,11 MPa'dan 2,87 MPa'ya) ve termal kararlılığını iyileştirdiğini göstermiştir. Mısır nişastası nanopartikülleri (%0-25) ile desteklenmiş mısır nişastası temelli nanokompozit filmler üzerine yapılan bir çalışmada, kontrol filme kıyasla mısır nişastası nanopartikülü ilavesinin mekanik dayanımı (TS 1,40 MPa'dan 2,35 MPa'ya), su buharı geçirgenliğini ($5,89 \times 10^{-12}$ 'den $3,08 \times 10^{-12}$ g/m s MPa'ya) ve termal kararlılığı büyük oranda iyileştirdiği ortaya konmuştur (Dai ve ark., 2015).

Benzer şekilde film hazırlama çözeltilerine ultrases uygulaması (US) ile elde edilmiş filmler üzerine yapılan araştırmalarda, US uygulamasının filmlerin mekanik ve yapısal özelliklerini geliştirdiği saptanmıştır (Cheng ve ark., 2010; Gül ve ark., 2018; Abral ve ark., 2019; Wang ve ark., 2019; Yuan ve ark., 2021). Ultrases işlemi uygulanmış kitozan (CH) bazlı sargassum pallidum polisakkarit (SPP) yenilebilir aktif filmlerin özelliklerinin incelendiği bir araştırmada, ultrasonik işlemle birlikte sargassum pallidum polisakkaritlerinin eklenmesinin filmlerin şeffaflığını, uzamasını ve gerilme direncini önemli ölçüde artırdığı, buna karşın su buharı geçirgenliğini azalttığı belirlenmiştir. Araştırmacılar tarafından kitozan eklenmiş polisakkarit filmlerin yalnızca kitozandan elde edilmiş filmlere kıyasla daha iyi antioksidan aktivite sergilediği ve ultrases işlemin filmin antioksidan aktivitesini daha da güçlendirdiği belirtilmiştir. Ayrıca, CH / SPPs-US filmlerin, oda sıcaklığında ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) ve %70±5 bağıl nemde depolanan çileklerin raf ömrünü etkili bir şekilde uzattığı ve bozulmayı önlediği saptanmıştır. Bu nedenle, ultrases yoluyla elde edilen CH/SPP filmlerin, taze meyvelerin korunması için yenilebilir ambalaj filmleri olarak kullanılabilceği ifade edilmiştir (Yuan ve ark., 2021). Başka bir araştırmada, ultrases uygulamasının karanfil uçucu yağı ile zenginleştirilmiş fındık küspesi proteini bazlı yenilebilir filmlerin mekanik, bariyer ve antimikrobiyal özelliklerini iyileştirdiği tespit edilmiştir (Gül ve ark., 2018). Cheng ve ark. (2010), belirli bir süre ultrases ile muamele edilen mısır nişastası dispersiyonlarından elde edilen filmler üzerine yaptıkları araştırmalarında,

ultrases uygulamasının mısır nişastası dispersiyonlarının viskozitelerinde önemli bir düşüşe ve çözünürlükte belirgin bir artışa neden olduğunu belirlemişlerdir. Elde edilen filmlerin ise daha şeffaf, daha iyi nem direncine ve daha güçlü yapıya sahip olduğu vurgulanmıştır. Ultrasonikasyon işlemi kullanılarak hazırlanan sago nişasta filmlerinin karakterize edildiği bir araştırmada, 600W'da 10 dakika süre ile ultrasonikasyon işlemine tabi tutulmuş filmlerin daha kompakt ve homojen yapı gösterdiğini ve sonike olmayan kontrol filmlere göre daha yüksek termal dirence ve gerilme direncine sahip olduğu belirlenmiştir. Filmlerin su buharı geçirgenliği, opasitesi ve su emme kapasitesinin ise ultrasonikasyondan sonra önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir. Araştırma sonucunda, sago nişasta film üretiminde ultrasonikasyonun film özelliklerini geliştirmek için basit, çevre dostu bir işlem olduğu belirtilmiştir (Abral ve ark., 2019).

2.2. Zencefil Nişastası

Zencefil (*Zingiber officinale*) çoğunlukla Hindistan'da olmak üzere tıbbi amaçlarla kullanılmak için üretilen popüler bir baharattır. Çin, Endonezya ve Nijerya gibi tropikal ve alt tropikal bölgelerde de sıklıkla üretilir. Enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde antimikrobiyal potansiyele sahiptir. Aynı zamanda yaşlanma sürecini kontrol etmek gibi anti-inflamatuar ve anti-oksidatif özellikleri vardır. Özellikle zencefilin gastrointestinal sistem üzerinde oldukça yararlı etkilerinin olduğu bilinmektedir. Zencefil, Endonezya toplumunun ekonomisi için önemli bir üründür. Ilık zencefil içeceği Endonezya'da en sevilen içeceklerden biridir. Hazır zencefil içeceği üretiminin, %11,4'lük bir zencefil nişastası yan ürünü vardır (De Oliveira ve ark., 2019). Bu yan ürün sadece anahtarlık şeklinde hediyeelik eşya yapımında ham madde olarak kullanılmaktadır. Zencefilin gingeroller, shogaoller, paradoller ve zingerone gibi uçucu-uçucu olmayan birçok biyoaktif fenolik bileşik içerdiği bilinmektedir. Zencefilin ana biyoaktif bileşenlerinin gingeroller ve shogaoller olduğu bildirilmiştir. Yüksek toplam karbonhidrat içeriği (%70-79) ve %40,4 ile 59 arasında değişen nişasta içeriği (Reyes ve ark., 1982; Reyes ve Appolonia, 2017) daha önce bildirildiği hâlde nişastasının karakteristiği ile ilgili herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Zencefil nişastasının jelatinizasyon sıcaklığının 78°C olduğu ve bu

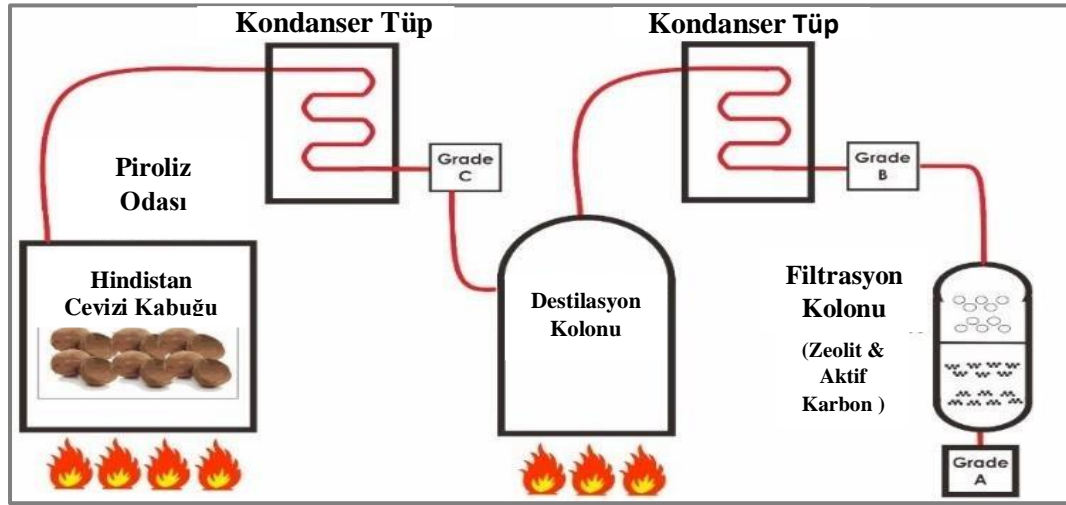
değerin nişastalar için yaygın olarak gözlenen jelatinizasyon sıcaklığı aralığında olduğu belirtilmiştir. Araştırma sonucunda zencefil nişastasının, %36,94 amiloz ve %63,06 amilopektinden oluşacak şekilde, farmasötik/tıbbi kullanıma uygun, çok kristalli bir organik polimer olduğu anlaşılmıştır (Hanum, 2010). Zencefil kök sapları yaklaşık %11,4 nişasta içerir; amiloz içeriği (%18-30), patates nişastasıninkine yakinken manyok nişastasıninkinden yüksektir (De Oliveira ve ark., 2019).

2.3. Sıvı Tütsü

Geleneksel tütsüleme, gıdaların ve özellikle etlerin muhafazası için yüzyıllardır kullanılan bir yöntemdir. Odun dumanı ile tütsülenmiş gıdalar, antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri ile gıda kalitesini korumanın yanı sıra, ürünlere istenilen renk, lezzet ve aroma kazandırılmasına katkı sağlar. Geleneksel tütsülemeye kıyasla sıvı tütsü uygulamasının kullanım kolaylığı, düşük fiyat, çevre dostu bir ürün olması ve potansiyel karsinogenik maddeler olan PAH içermemesi gibi pek çok avantajı nedeniyle son yıllarda geleneksel tütsünün yerini, sıvı tütsüleme teknikleri almıştır (Nithin ve ark., 2020).

2.3.1. Sıvı tütsü üretimi

Sıvı tütsü, talaş veya odun yongalarının kontrollü minimal oksijen pirolizi ile elde edilen odun dumanının yoğunlaştırılması ile üretilir. Odun geniş imbiklere yerleştirilir ve oduna yoğun ısı uygulanır. Bu, odunun içten yanmasına neden olur ve böylece normal tütsüde gözlenen gazların salınması gerçekleşir. Bu gazlar, hızlıca tütsüyü sıvılaştıran yoğunlaştırıcılarda soğutulur. Sonrasında sıvı tütsü arıtma kazanlarından geçirilir ve zehirli ve kanserojen safsızlıklar uzaklaştırılır (Nithin ve ark., 2020). Şekil 2.3.1.'de tipik bir sıvı tütsü üretim tesisinin şeması gösterilmektedir.



Şekil 2.2. Sıvı tütsü üretimi (Putranto ve ark., 2020).

Sıvı tütsünün lezzetini ve antimikrobiyal özelliklerini etkileyen faktörler arasında, tütsü üretim sıcaklığı, ham maddenin nem içeriği ve tütsü üretimi için kullanılan ham madde türü sayılabilir (Simko, 2005). Sıklıkla kullanılan ham maddeler, ceviz ağacı ve meşe ağacıdır ancak, sıvı tütsü pirinç kabuğu (Kim ve ark., 2011; Kim ve ark., 2012), hindistan cevizi kabuğu (Zuraida ve ark., 2011) ve pekan cevizi kabuğundan (Van Loo ve ark., 2012) da üretilmiştir. Sıklıkla sıvı tütsü üretiminde kullanılan odunlar kabaca, %25 hemiselüloz, %50 selüloz ve %25 ligninden oluşur (Simko, 2005). Piroliz, suyun buharlaşmasından başlayarak, sırasıyla hemiselülozların, selülozun ve ligninin dekompozisyonundan oluşan dört aşamada meydana gelir. Hemiselüloz ve selülozun pirolizi, 180°C ile 350°C arası meydana gelir ve karboksilik asitler ve karbonil bileşikler oluşturur. Ligninler ise 300°C ile 500°C arası sıcaklıklarda pirolize uğrar ve fenol üretir (Ramakrishnan ve Moeller, 2002; Simko, 2005). Fenoller gibi bileşenler tütsü lezzetinden ve tütsülü aromadan sorumluyken karbonil grupları tütsülenmiş ete hoş bir aroma ve renk verir. Karboniller, asitler ve fenollere ek olarak odunların pirolizi, polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) gibi istenmeyen bileşiklerin oluşmasına neden olur. Bazıları doğal olarak oluşurken bir kısmı yanma sonucu oluşmaktadır ve tipik olarak 500°C-900°C arası piroliz sıcaklıklarında oluşur (Simko, 2005). PAH oluşumu seviyesi, odun kaynağından da etkilenir (Guillén ve ark., 2000). Benzo(a)piren (B(a)P) gibi bazı PAH bileşiklerinin, gıdada 300 ppm'den fazla maruz kalındığında gebe farelerde doğum kusurlarına neden

olduğu ortaya konmuştur. 900 ppm'den yüksek seviyelerde PAH içeren gıdalar, deney hayvanlarında karaciğer bozukluklarına neden olmuştur. Avrupa Birliği (AB) düzenlemeleri, gıdada izin verilen PAH miktarını sınırlarken Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (FDA), PAH için herhangi bir üst limit belirtmemiştir (Dolan ve ark., 2010). Tütsülenmiş etlerde daha düşük B(a)P seviyeleri elde etmenin mümkün olduğunu gösteren verilere dayanarak, AB'de satılan gıda ürünlerinde PAH için düzenlenmiş kabul edilebilir seviyeler, 2014'de spesifik olarak B(a)P için, 0.005 ppm'den 0.002 ppm'e düşürülmüştür (EC; No. 835/2011) (Lingbeck ve ark., 2014). Bu seviye, doğum kusurlarına neden olduğu bilinen seviyeden 150.000 kat düşüktür. PAH, son derece zehirli olduğu hâlde düşük su çözünürlüğüne sahiptir. Bu durum, sıvı tütsü üreticilerinin faz ayrılması ve filtre teknikleri kullanarak bu bileşikleri son üründen kolaylıkla ayırmasına olanak sağlamaktadır (Darmadji ve Triyudiana, 2006).

2.3.2. Sıvı tütsünün antimikrobiyal aktivitesi

Sıvı tütsünün bakterisit/bakteriyostatik etkisi olduğu tespit edilen iki temel bileşeni, fenol ve bazı organik asitlerdir. Mikrobiyal gelişimi önleme ve kontrol etmede sinerji hâlinde çalışan fenollerden organik asitlere kadar fonksiyonel bileşenler arasında bir kombinasyon vardır (Anggraini ve Yuniningsih, 2017). Farklı kaynaklardan elde edilen odunlar piroliz sonrası farklı seviyelerde fenol, karbonil ve organik asitler üretir ve bu, tütsülerin antimikrobiyal özelliklerini etkiler. Sıvı tütsü veya sıvı tütsü fraksiyonlarının Gram pozitif ve Gram negatif mikroorganizmalara karşı etkileri farklılık göstermektedir. Aynı organizmanın farklı suşlarının duyarlılığı farklı olabilmekte ve bu da mikrobiyal inhibisyondan sorumlu mekanizmaları ve bileşenleri tespit etmeyi güçleştirmektedir (Sofos ve ark., 1988). Sıvı tütsü kondensatlarının içerdiği fenol miktarının yaklaşık 9,9–11,1 mg/mL olduğu bildirilmiştir. Fenolik bileşiklerin, bakterilerin sitoplazmik membranını bozduğu ve hücre içi sıvıların sızmasına neden olduğu bilinmektedir (Davidson ve ark., 2014). Sıvı tütsedeki karbonil miktarlarının yaklaşık %2,6 ile %4,6 arası olduğu rapor edilmiştir (Milly ve ark., 2005). Karbonillerin antimikrobiyal olarak etkinliği, sıvı tütsüde mevcut 133 farklı aldehit ve ketondan kaynaklanmaktadır (Montazeri ve ark., 2013). Karboniller,

hücre duvarını etkileyerek ve sitoplazma ve sitoplazmik membranda bulunan enzimleri inaktive ederek mikrobiyal inhibisyonu gerçekleştirirler (Milly, 2003)

Sıvı tütsünün, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *S. aureus* ve *Salmonella* gibi tüketime hazır yiyeceklerde ve diğer gıda ürünlerinde bulunan gıda kaynaklı patojen sayısını azaltma yeteneği olduğu gösterilmiştir. Etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte hem fenolik bileşiklerin hem de karbonil bileşiklerin antimikrobiyal özelliklerine katkı yaptığı düşünülmektedir. Ticari sıvı tütsü ekstraktları uygulanmış gıda sistemi yüzeylerinde, *L. monocytogenes* gibi gıda kaynaklı patojenlerin azaldığı gösterilmiştir (Gedela ve ark., 2007a; Gedela ve ark., 2007b; Martin ve ark., 2010). Tüketime hazır et endüstrisi, bu ürünlerin ambalajlamadan önce işleme sonrası kontaminasyonun önüne geçmek için, ticari sıvı tütsünün antimikrobiyal ajan olarak kullanımını uygun görmektedir (Van Loo ve ark., 2012).

Ticari sıvı tütsü örneklerinin antimikrobiyal etkinlikleri, tütsü kaynaklarına, tütsü kompozisyonuna, ekstraksiyon ve yoğunlaştırma için kullanılan yöntemlere bağlı olarak değişebilir. Van Loo ve ark. (2012), sekiz ticari sıvı tütsü örneğinin, *S. Enteritidis*, *S. aureus* ve *E. coli*'ye karşı minimum inhibisyon konsantrasyonlarını araştırmışlardır. Ticari tütsülerin, gıda kaynaklı patojenlerin gelişimini engellemek için yeterli minimum inhibitör konsantrasyonları, *E. coli* için %0,5-%8,0, *S. Enteritidis* için %0,5-%8,0 ve *S. aureus* için %0,38 ile %6 arasında değişmiştir. Sonuçlar, araştırmada test edilen sıvı tütsü örneklerinin etkili antimikrobiyaller olarak işlev görebileceğini ve inhibitör etkilerinin odun kaynağından ziyade ekstraksiyon için kullanılan çözücüye bağlı olduğunu göstermiştir. Yapılan başka bir araştırmada, pirinç kabuklarının pirolizi ile üretilen bir sıvı tütsünün, *S. Typhimurium*'a karşı %0,1-%1 arasında değişen konsantrasyonlarda bakterisit etkisi olduğu disk difüzyon yöntemi ile gösterilmiştir. Daha yüksek pirinç kabuğu sıvı tütsü konsantrasyonlarında daha geniş inhibisyon zon gözlenmiştir.

E. coli hayvanların ve insanların normal bağırsak florasında bulunan zararsız bir bakteri olmasına karşın insanlarda hastalıklara neden olan patojen türleri de bulunmaktadır. Enterohemorajik *E. coli* O157:H7'nin, shiga toksin ile homolog yapıda

iki ayrı toksin (verotoksin 1 ve 2) üretmektedir. Günümüzde verotoksin üreten 100'den fazla *E. coli* serotipi bulunmakta ve *E. coli* O157: H7 verotoksin üreten en tehlikeli gıda kaynaklı patojen bakteriler arasında değerlendirilmektedir. *E. coli* O157: H7'nin enfektif dozu 100 hücreden daha azdır. İnsanlarda, hemorajik kolitis ve hemolitik üremik sendrom gibi ölümlü sonuçlanabilen hastalıklara neden olmaktadır. *E. coli* O157: H7 suşlarının kontaminasyonuna, özellikle sığır eti olmak üzere az pişmiş etlerde, pastörize edilmemiş süt ürünlerinde ve çiğ meyve ve sebzelerde rastlanmaktadır (Lim ve ark., 2010).

Tütsü kondensatlarının, %0,05'ten %1'e kadar değişen konsantrasyonlardaki antimikrobiyal özellikleri, *E. coli* O157:H7 suşlarına karşı değerlendirilmiştir. Bu suşlar, %0,1 tütsü konsantrasyonlarına kadar gelişmeyi sürdürebilirken, bakteri gelişimi konsantrasyon %25'e ulaştığında durmuştur (Fretheim ve ark., 1980). Çeşitli ticari sıvı tütsünün *E. coli* O157:H7'e karşı minimum inhibisyon konsantrasyon (MIC) değerleri, Van Loo ve ark. (2012) tarafından bildirilmiştir. Etkili konsantrasyonlar, sıvı tütsünün kaynağına bağlı olarak %0,75-6 değerleri arasında değişim göstermiştir. Yapılan başka bir araştırmada, model bir et sisteminde sıvı tütsünün *E. coli* üzerindeki etkisi bildirilmiştir. Sığır eti kıymalarına 7 log kob/g düzeyinde *E. coli* O157:H7 suşları inokule edilmiş ve kıymalara son konsantrasyonu %8 olan sıvı tütsü fraksiyonu Kod V uygulanmıştır. Kıymalar ezilip köfte haline getirildikten sonra ısı ile mühürlenmiş ve 4°C'da depolanmıştır. İşlem görmemiş kıymalara kıyasla sıvı tütsü ile işlenmiş kıymalarda, 3 günlük soğuk depolama sonrası 2.3 log kob/g'lık bir azalma meydana gelmiştir (Estrada-Muñoz ve ark., 1998).

2.3.3. Hindistan cevizi kabuğu sıvı tütsüsü (CSLS)

Hindistan cevizi (*Cocos nucifera*), tropik ülkelerde yetiştirilen bir üründür. Kabukları sıklıkla tarımsal atık olarak görülse de bunların yüksek antioksidan özellikleri vardır. 400°C'de meydana gelen kimyasal değişiklikleri içeren piroliz yöntemi ile oluşan odun dumanı buharının yoğunlaşması ile sıvı tütsü elde edilir. Hindistan cevizi kabuğunun pirolizi ile hindistan cevizi kabuğu sıvı tütsüsü (CSLS) olarak adlandırılan bir ürün elde edilir. CSLS'nin, fenoller gibi kimyasal bileşenleri ve antioksidan,

antiinflamatuvar ve antimikrobiyal özelliklerinden dolayı farklı uygulamaları giderek artan oranda araştırılmaktadır (Hadanu and Apituley, 2016).

Endonezya, en geniş Hindistan cevizi ekim alanına sahip ülkedir (Alouw ve Wulandari, 2020). Hindistan cevizi çiftçilerinin gelirlerini artırmak için büyük potansiyele sahiptir. Hindistan cevizi yemeklik yağ, çeşitli işlem görmüş gıdalar ve içeceklerde ham materyal olarak kullanılmaktadır. Hindistan cevizi lifleri ızgara balık ve tütsülenmiş balık gibi taze gıdaların işlenmesinde kullanılır. Hindistan cevizi kabuğu ise kömür ve aktif kömür yapımında kullanılmaktadır. Hindistan cevizi kabuğunun kömür veya aktif kömüre dönüştürülerek değerlendirilmesi ideal değildir çünkü duman formundaki yan ürünlerinin çevre üzerinde olumsuz etkileri vardır. Bu çevre sorunlarının üstesinden gelmek için teknoloji ve ileri işlemler gerekmektedir. Bunlardan biri sıvı tütsü üretimidir. Sıvı tütsü, piroliz işlemi esnasında oluşan dumanın yoğunlaştırılması ile üretilir. CSLS üretiminin iki ana adımı vardır:

1. Piroliz: Hindistan cevizi kabuğunun yanması esnasında hindistan cevizi kabuğunun, selüloz, hemiselüloz ve lignin olmak üzere ana bileşenleri, piroliz sürecinden geçer ve çeşitli bileşenler oluşturur. Piroliz prosesi, parçalanma, oksidasyon, polimerizasyon ve yoğunlaşma olmak üzere çeşitli reaksiyonları içerir. Piroliz esnasında ilk önce 25- 200°C'da odun veya hindistan cevizi kabuğundan su uzaklaştırılmakta, daha sonra sırasıyla 200-250°C'de hemiselüloz pirolizi, 280-320°C'de selüloz pirolizi ve 400°C'de lignin pirolizi gerçekleştirilmektedir.

2. Damıtma: Sıvı tütsü, 100°C'den düşük sıcaklıklarda, berrak damıtılmış sıvı damlaları oluşmayana kadar, damıtıcılarda kaynatılır. Üretilen tütsü daha uçucu bileşenler içerir ve böylece bileşenlerin ayrılması işlemi meydana gelir. Damıtma ile istenmeyen PAH sıvıdan uzaklaştırılır. Dolayısıyla tütsünün ilk formu ile karşılaştırıldığında sıvı tütsü sağlık için çok daha güvenlidir ve tütsülü tat ve renk yoğunluğunu kontrol etmek daha kolay olduğu için gıda ürünlerine uygulanması daha kolaydır (Saloko ve ark., 2016). Hindistan cevizi sıvı tütsüsünün kimyasal bileşenleri, Tablo 2.1.'de verilmiştir.

Tablo 2.1. CSLS’de bulunan kimyasal bileşen yüzdeleri (GCMS)

| No | Bileşikler | % |
|----|---------------------------|-------|
| 1 | Hexane | 2,57 |
| 2 | Hexam | 18,53 |
| 3 | Cyclone Pentena | 0,34 |
| 4 | 2- propanone | 0,35 |
| 5 | 1- pentena-2-ol | 0,87 |
| 6 | acetic acid | 30,23 |
| 7 | 2- propanone | 2,01 |
| 8 | 2- furaldehyde | 3,80 |
| 9 | 2- furanmethanol | 0,38 |
| 10 | propanoic acid | 1,47 |
| 11 | 2 (3H) - furanon | 1,16 |
| 12 | 2- furanmetanol | 2,21 |
| 13 | 2- cyclopentane | 0,74 |
| 14 | methoxy phenol | 3,45 |
| 15 | 2- methoxy-4-methylphenol | 0,97 |
| 16 | phenol | 29,77 |
| 17 | 2.6 dimethoxy phenol | 1,15 |

Hindistan cevizi kabuğu sıvı tütsüsünün phenol, 2-methoxyphenol (guaiacol), 3,4-dimethoxyphenols ve 2-methoxy-4-methylphenol gibi fenolik bileşenler, karboniller ve organik asitler gibi biyoaktif bileşikler içerdiği rapor edilmiştir. Dihidroksi benzoik asit, metoksibenzoik asit ve hidroksi benzoik asit, CSLS'de bulunan minör asidik bileşendir. Bu nedenle proteinli gıda ürünlerinin raf ömrünü artırma potansiyeline sahip olduğu belirtilmiştir (Borate ve ark., 2013).

CSLS'nin *S. aureus*, *E. coli* ve *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal etkisi kuyu difüzyon yöntemi kullanılarak incelenmiş ve araştırma sonucunda test bakterilerine karşı inhibisyon etkisinin olduğu bildirilmiştir (Kailaku ve ark., 2017). Hindistan cevizi kabuğu sıvı tütsüsünün antibakteriyel aktivitesi ve CSLS'nin balık köftesinin muhafazası üzerine yapılan bir araştırmada, tütsünün *Pseudomonas aeruginosa* ve *S. aureus*'a karşı minimum inhibitör konsantrasyonunun sırasıyla %0,22 ve %0,40 olduğu belirlenmiştir. Araştırmada, %2,5 CSLS uygulamasının 4°C depolamada balık köfterinin raf ömrünü etkin bir şekilde artırdığı tespit edilmiştir (Zuraida ve ark.,

2011). Saloko ve ark. (2014), hindistan cevizi kabuğu sıvı tütsü nanokapsüllerinin antioksidatif ve antimikrobiyal aktivitelerini inceledikleri araştırmalarında, CSLS nanokapsüllerinin daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiğini ve taze ton balığı balıkları için etkili bir koruyucu madde olduğunu belirlemişlerdir.

Gıda sistemlerinde ve *in vitro* koşullarda gösterildiği üzere sıvı tütsü, çeşitli patojenlere karşı etkili bir antimikrobiyaldir. Gıda endüstrisinde sıvı tütsünün ticari kullanımı, bir yandan gıda güvenliği sağlarken bir yandan da müşterilerin tam doğal ürün talebini karşılamaktadır. Sıvı tütsünün ürünlere hoş bir lezzet katması ve gıda kaynaklı patojenlere karşı inhibitör etkisi nedeniyle özellikle et, balık ve peynir gibi protein temelli gıdaların muhafazasında daha sık kullanılmaktadır. Sıvı tütsülerin koruyucu etkisi, aldehit, karboksilik asit ve fenol gibi antimikrobiyal ve antioksidan bileşenler ile elde edilir. Geleneksel tütsüleme tekniklerine kıyasla sıvı tütsünün, kullanım kolaylığı, tütsüleme prosesinin hızı, son tütsülü üründe elde edilen istenilen karakterlerin tekrar edilebilirliği ve zararlı polisiklik aromatik hidrokarbonları içermeme gibi avantajları vardır (Montazeri ve ark., 2013).

Başta etler olmak üzere gıdaların tütsülenmesi muhafaza yöntemi olarak yüzyıllardır kullanılmaktadır. Günümüzdeki tütsüleme yöntemleri çoğunlukla odun dumanı kondensatlarının, daha yaygın bilinen adıyla sıvı tütsünün, kullanılmasını içerir. Sıvı tütsü, talaş veya odun yongalarının pirolizi ile oluşan odun dumanının yoğunlaştırılması ve bunu takiben kanserojen poliaromatik hidrokarbonların uzaklaştırılması ile üretilir. Odun pirolizinin ana ürünleri fenoller, karboniller ve organik asitlerdir ve bunlar, sıvı dumanın lezzeti, rengi ve antimikrobiyal özelliklerinden sorumludur. Patojen *E. coli*, *Escherichia coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *Salmonella* ve *Staphylococcus* gibi çeşitli yaygın gıda kaynaklı patojenlerin sıvı tütsüye karşı duyarlı olduğu *in vitro* koşullarda ve gıda sistemlerinde gösterilmiştir. Bu nedenle sıvı tütsünün, tütsü tadı istenilen durumlarda tam doğal bir antimikrobiyal olarak ticari uygulamalarda kullanılma potansiyeli vardır (Vitt ve ark., 2001; Holley ve Patel, 2005; Milly ve ark., 2005; Gedela ve ark., 2007a; Gedela ve ark., 2007b; Martin ve ark., 2010; Morey ve ark., 2012; Lingbeck ve ark., 2014). Bu kanıtlara dayanarak, sıvı tütsünün antimikrobiyal, antioksidan, renklendirme ve lezzet

verici özellikleri, yenilebilir filmlerde kullanımı için potansiyel olarak çekici bir katkı maddesi olmasını sağlamaktadır.

Siskos ve ark. (2007) tarafından yürütülen bir çalışmada 3 farklı sürede (30, 45 ve 60 dak.) sıvı tütsülen, polietilen poşetlerde ambalajlanan ve 4°C’de depolanan alabalık (*Salmo gairdnerii*) filetoalarının kimyasal, duysal ve mikrobiyolojik özellikleri incelenmiş ve 60 dak. tütsülen örneklerin en yüksek raf ömrüne sahip olduğu ve sıvı tütsülemenin mikrobiyal gelişimi sınırladığı bildirilmiştir. Alçiçek (2011) sıvı tütsülen gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) filetoalarını kekik yağı ilave ederek vakum ambalajladıktan sonra 4°C’ de 150 gün depolamıştır. Depolama sonunda bakteri sayısının azaldığı rapor edilmiştir.

Sıvı tütsünün gıdalarda direkt kullanımına yönelik oldukça fazla sayıda araştırma olmasına karşın sıvı tütsünün yenilebilir film formulasyonlarında kullanımına yönelik literatürde oldukça sınırlı sayıda araştırma bulunmaktadır (Wang ve ark., 2016; Soazo ve ark., 2016; Piccirilli ve ark., 2019). Wang ve ark. (2016) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, farklı konsantrasyonlarda sıvı tütsü ilavesinin jelatin bazlı yenilebilir filmlerde mekanik ve su bariyer özelliklerini iyileştirdiğini ve FTIR spektrumları ve çapraz bağlanma derecesi saptama sonuçlarına göre bu durumun sıvı tütsüdeki karbonil grupları ile jelatin içindeki amit grupları arasındaki çapraz bağlanma ile ilişkilendirildiği belirtilmiştir. Piccirilli ve ark. (2019), ağırlıkça %10 sıvı tütsü ilave edilmiş peyniraltı suyu protein konsantresi temelli yenilebilir filmleri araştırmışlardır. Depolama koşullarının filmlerin fizikokimyasal kararlılığı (ışık geçirgenliği, şeffaflık, renk, toplam karbonil türevi içeriği, kahverengileşme indeksi, nem içeriği, çözünürlük, kalınlık, mekanik özellikler, SEM mikrografileri ve FTIR spektrumları) üzerindeki etkisi 28 gün boyunca incelenmiştir. Araştırma sonucunda filmlerin fizikokimyasal karakteristiklerinin 8°C’da daha iyi korunduğu ve bu nedenle filmlerin buzdolabı koşullarında saklanan gıdaların ambalajlanmasında kullanılabileceği bildirilmiştir. Sıvı tütsü içeren peyniraltı suyu konsantresi (WPC) bazlı yenilebilir filmlerin antimikrobiyal ve fizikokimyasal özelliklerinin belirlendiği başka bir araştırmada, sıvı tütsünün in vitro ortamda test mikroorganizmalarına karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği, sıvı tütsü ilavesinin filmlerin mekanik özelliklerini (çekme direnci (MPa)

ve kopma anındaki uzama yüzdesi) artırdığı belirlenmiştir. Araştırma sonuçları doğrultusunda sıvı tütsü içeren WPC bazlı yenilebilir filmlerin gıda kalitesi ve güvenliğini korumanın yanında tüketicinin arzu edebileceği füme aroması nedeniyle gıda uygulamaları için umut verici olabileceği belirtilmiştir (Soazo ve ark. 2016).

Ambalaj üreticileri gıdayı daha uzun süre taze tutmak üzerinde çalışırken, tüketiciler ise gıdanın tazeliğini paketi açmadan görmeyi istemektedir. Günümüzde yapılan çalışmalar her ikisinin de nanoteknoloji ile mümkün olabileceğini göstermektedir. Nanokompozit filmler meyve-sebze, et ve et ürünleri, deniz ürünleri ve şekerleme sektöründe geniş kullanım alanı bulmaktadır. Literatürdeki çok sınırlı sayıda sıvı tütsü içeren yenilebilir filmlerle ilgili araştırma bulunmasına karşın nano formda sıvı tütsü içeren yenilebilir filmler ve bu filmlerin gıda üzerine uygulamasına yönelik herhangi bir araştırma bulunmamaktadır. Bu tez projesi kapsamında literatürdeki bu boşluğun doldurulması hedeflenmektedir.

BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Hindistan cevizi kabuğu sıvı tütsüsü (CSLS, Grade 1) ve zencefil nişastası Endonezya'dan (sırasıyla Prima Rosandries ve UKM R-Rovit); gliserol, tween 80, Sigma-Aldrich'ten (St. Louis, ABD) temin edilmiştir. Sıvı tütsünün polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) bileşiklerini içermediği yapılan Oksijen Analiz Özel Kontrol Laboratuvarından hizmet alınımıyla belirlenmiştir. Kıyma yerel bir kasaptan satın alınarak, Sakarya Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü laboratuvarına soğutulmuş kaplarda getirildikten sonra 4°C'de muhafaza edilmiştir. Kıyma örnekleri kimyasal ve mikrobiyolojik analizler için ayrılarak steril stomacher poşetlerine konulmuştur. Mikrobiyolojik analizlerde kullanılacak kıyma örnekleri Türkiye Atom Enerjisi Kurumu'nda (SANAEM, Ankara) kobalt-60 gama ışınlayıcıda 10 kGy'de ışınlanarak sterilize edilmiştir. Işınlanmış kıyma örnekleri daha sonra mikrobiyolojik analiz için -18°C'de muhafaza edilmiştir. Steril kıyma örnekleri, analizden önce 4°C'de 24 saat süreyle çözündürülmüştür. Kıymanın sterilitesi analiz boyunca test edilmiş ve muhafaza süresi boyunca saptanabilir bir kontaminasyon belirlenmemiştir.



Şekil.3.1. Zencefil nişastası, hindistan cevizi kabuğu sıvı tütsü ve kıyma örneği

3.2. Nanoemülsiyon Üretimi

Zencefil nişastası (%5 w /v), saf su içinde dağıtılmış ve 90 °C'de 30 dakika ısı işlem uygulanarak jelatinizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Zencefil nişasta süspansiyonuna farklı konsantrasyonlarda hindistan cevizi kabuğu sıvı tütsüsü (%0, %5, %10 ve %15), gliserol (%1,5) ve Tween 80 (%0,5) eklenmiş ve 18000 rpm'de 2 dakikada homojenize edilmiştir (T25 dijital Ultra-Turrax, IKA, Staufen, Almanya). Daha sonra elde edilen birincil emülsiyonlar, 20 kHz frekansta 750 W gücünde bir ultrasonikatör ile (Sonics, VCX750, Amerika) %80 genlikte 5 dakika işleme tabi tutulmuştur. İşlem sırasında 13 mm çapında titanyum prob kullanılmıştır. Ön denemelerde, test edilen bakteriler (*E. coli*, *S. aureus*, *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *S. Enteritidis* ve *B. cereus*) için CSLS'nin minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) değerleri, sırasıyla %1-3 ve %5-10 aralığında belirlenmiştir. Bu veriler, CSLS içeren zencefil nişasta film formülasyonunun konsantrasyonunu belirlemek için kullanılmıştır (Soazo ve ark. 2016,).

3.3. Partikül Büyüklüğü ve ζ -Potansiyeli

Nanoemülsiyon hale getirilen sıvı tütsü içeren zencefil nişastası bazlı yenilebilir film solusyonlarının zeta potansiyel ve partikül boyut ölçümü için Malvern marka Nano ZS (Worcestershire, İngiltere) cihazı kullanılmıştır. Ölçümler 25°C sıcaklıkta, üç kez ve iki tekrarlı olacak gerçekleştirilmiştir.

3.4. Film Üretimi

Nanoemülsiyon hale getirilen sıvı tütsü içeren zencefil nişastası bazlı yenilebilir film çözeltileri hava kabarcıklarını gidermek için ultrasonik su banyosunda (Bandelin Sonorex Digitec, Almanya) bekletilmiştir. Daha sonra film çözeltileri plastik petri kaplarına 15 mL aktararak 30°C deki kurutma dolabında 48 saat kurutulmuştur (Soazo ve ark. 2016). Filmler karakterizasyon testleri yapılmaya kadar 25°C'da %50 bağıl nemli ortamda bekletilmiştir (Şekil 3.2.).



Şekil 3.2. Film üretimi

3.5. Yenilebilir Filmlerin Karakterizasyonu

3.5.1. Film kalınlığı

Elde edilen filmlerin kalınlıkları 0,001 mm hassasiyetli dijital mikrometre ile ölçülmüştür. Film kalınlığı, rastgele seçilen 10 noktada 0.001 mm hassasiyetli dijital bir mikrometre kullanılarak ölçülmüş ve ortalama değer belirlenmiştir.

3.5.2. Renk ve opaklık

Filmlerin renk değerleri bir kolorimetre (PCE-CSM 7, PCE Instruments, İngiltere) kullanılarak belirlenmiştir. Örnekler standart beyaz bir plakanın yüzeyine yerleştirilerek L^* (0: siyah, 100 beyazlık), a^* (kırmızılık/yeşillik), b^* (sarıklık/mavilik) parametreleri ölçülmüştür (Sun ve ark., 2017). Bu amaçla her filmin 5 farklı noktasından ölçüm yapılmıştır.

Filmlerin opaklık değeri, dikdörtgen parçalar halinde kesilen film örneklerinin ve spektrofotometre küvetine yerleştirildikten sonra 600 nm'de UV spektrofotometrede (Shimadzu, UV-1240, Kyoto, Japonya) ölçülmesiyle belirlenmiştir. Filmin opaklığı aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır (Zhang ve ark., 2019):

$$\text{Opaklık} = A_{600}/x$$

Eşitlikte; x: film kalınlığını ve A_{600} : 600 nm dalga boyunda okunan absorbans değerini ifade etmektedir.

3.5.3. Su buharı geçirgenliği

Filmlerin su buharı geçirgenliği (WVP), Xu ve ark. (2018) tarafından önerilen yöntem modifiye edilerek gravimetrik olarak belirlenmiştir. Analiz öncesi filmler 25°C’de %50 bağıl nem ortamında 24 saat boyunca dengeye getirilmiştir. Plastik test kapları (iç çap: 2,5 cm, dış çap 3,0 cm, derinlik: 10 cm) 20 mL saf su doldurulmuş ve film örnekleri ile kapatılmıştır. Örnekler, 25 °C ve %50 bağıl neme sahip iklimlendirme kabineye yerleştirilmiş ve hassas analitik terazi (± 0.0001 g) kullanılarak 12 saat boyunca 2 saatlik aralıkla tartılmıştır. Analizler 3 tekrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Ağırlık-zaman eğrilerinin doğrusal olduğu bölgenin eğiminden yararlanılarak filmin su buharı geçirgenliği aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır.

$$WVP = (WVTR \times L) / \Delta P$$

Eşitlikteki WVTR (g mm/kPa h m²), su buharı iletim hızıdır ve lineer regresyon ($R^2 \geq 0.99$) ile hesaplanan zamana bağılı ağırlık değişiminin eğiminin film yüzey alanına (m²) bölünmesi ile hesaplanmıştır. L: film kalınlığını (mm) ve ΔP : kısmi basınç farkını (25 °C’da 1.585 kPa) ifade etmektedir.

3.5.4. Mekanik özellikler

Filmlerin mekanik özelliklerinin belirlenmesinde, ASTM 882 (ASTM, 2007a) standart yöntemi esas alınmıştır. Filmlerden standartta belirtilen şekilde hazırlanan 7 cm x 2 cm boyutlarında kesilen örnekler, 25°C ve %50±2 bağıl nemde 48 saat bekletilmiştir. Örneklerin, çekme dayanımı ve % uzamaları tekstür analiz cihazı (TA. XT Plus, Stable Micro Systems, Surrey, İngiltere) ile belirlenmiştir. Cihazın iki çenesi arasına yerleştirilen örnekler, 1 mm s⁻¹ çekme hızı ile test edilmiştir. Kopma anında örneğe uygulanan maksimum kuvvet ve kopma anındaki uzama miktarı mekanik test cihazına bağılı bilgisayar programı yardımıyla hesaplanmıştır. Her örnek için 5 farklı ölçüm gerçekleştirilmiştir.

3.5.5. Termal özellikleri

Filmlerin termal özellikleri diferansiyel taramalı kalorimetre (Perkin–Elmer DSC 4000, Boston, A.B.D) ile belirlenmiştir. Analiz, Bursa Teknik Üniversitesi Merkez Araştırma Laboratuvarı (BTÜ, MERLAB)’dan hizmet alımı yapılarak gerçekleştirilmiştir. Yaklaşık 5 mg civarı film örneği alüminyum kaplara tartılıp hermetik biçimde kapatılmıştır. Film örnekleri DSC cihazı (TA/Discovery DSC 251, ABD) ile 5°C/dk ısıtma hızı ile 20°C’den 200°C’ye ısıtılmıştır. Boş bir alüminyum kap referans olarak kullanılmıştır. Filmlerin erime sıcaklıkları (Tmax) ve denatürasyon entalpileri (ΔH) Universal Analyzer 2000, version 4.1D (TA Instrument-Waters LLC, New Castle, DE) ile tespit edilmiştir.

3.5.6. FTIR analizi

Filmlerin moleküler karakterizasyonu, Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektrometresi (Thermo Scientific Nicolet i50) ile karakterize edilmiştir. Filmlerin absorpsiyon spektrumları 400-4000 cm^{-1} aralığındaki frekanslarda ve 4 cm^{-1} çözünürlükte kaydedilmiştir. Analiz, Bursa Teknik Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı (BTÜ, MERLAB)’dan hizmet alımı ile gerçekleştirilmiştir.

3.5.7. FESEM

Film örneklerinin yapısal özellikleri alan emisyonlu taramalı elektron mikroskobu (FESEM, Quanta 450 FEG, FEI, USA) ile belirlenmiştir. Bu amaçla film örnekleri vakum altında altın ile kaplanarak analize hazırlanmış ve 500x, 1000x, 2000x ve 5000x olmak üzere dört farklı büyütme oranlarında görüntüler alınmıştır. Tüm numuneler, 5kV'luk bir voltaj kullanılarak görüntülenmiştir. FESEM analizi Sakarya Üniversitesi Araştırma Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi (SARGEM)’de hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir.

3.5.8. Antibakterial aktivite

Bakteri kültürü

E. coli, *S. aureus* *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *S. Enteritidis* ve *B. cereus* kültürleri Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği kültür koleksiyonundan temin edilmiştir. Tüm şuşlar %15 gliserol içeren Tryptic Soy Broth Yeast Extract (TSBYE, Merck) besiyerinde -20°C'da dondurularak muhafaza edilmiştir. Analiz öncesi test bakterileri TSBYE besiyerinde 37°C'da 24 saat inkübe edilerek aktive edilmiştir.

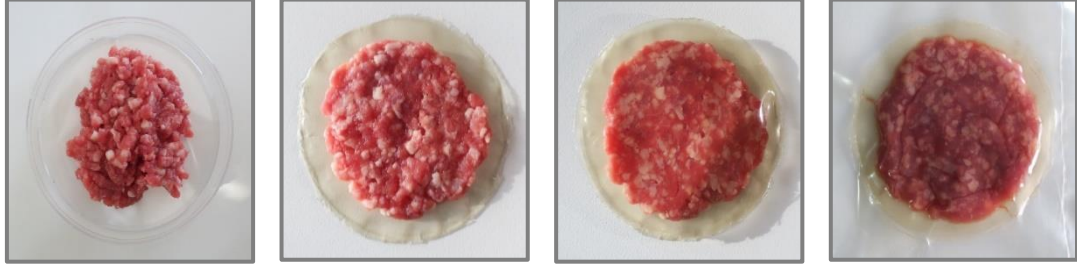
Yenilebilir film çözeltilisinin antibakteriyel etkinliği

Test mikroorganizmalarından *S. aureus*, *E. coli* Tip 1, *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *S. Enteritidis* TSBYE besiyeri içerisinde 37°C'de 24 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. Bakteri kültürleri son konsantrasyon ~5 log kob/mL olacak şekilde Tryptic Soy Agar Yeast Extract (TSAYE) besiyerine inoküle edilmiş ve besiyerinin katılaşması beklenmiştir. Aseptik koşullarda steril agar delici ile 8 mm çapında kuyular açılarak herbir kuyuya ultrases işlemi uygulanmış ve uygulanmamış farklı konsantrasyonlarda sıvı tütsü içeren film çözeltilerinden (%0, 5, 10, 15) 100 µL aktarılmıştır. 37°C'de 24 saat inkübasyon sonrasında kuyuların çevresinde oluşan inhibisyon zonlarının çapı milimetre olarak ölçülmüştür. Analizler üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir (Yemiş ve Candoğan, 2017).

3.6. Filmlerin Kıyma Önekleri Üzerine Uygulanması

Kıyma örnekleri 10±0,5 g tartılarak hamburger köftesi şekli verilmiş ve farklı konsantrasyonlarda sıvı tütsü içeren filmler ile kaplanmıştır. Film ile kaplanmış örnekler steril stomacher poşetlerine yerleştirilerek ısıyla kapatılmıştır (Şekil 3.3.). Örnek grupları, (1) filmle kaplanmamış kıyma örneği (C), (2) sıvı tütsü içermeyen zencefil nişastasası filmleri ile kaplanmış kıyma örnekleri, (3) %5, %10 ve %15 konsantrasyonda sıvı tütsü içeren zencefil nişastasası filmleriyle kaplı kıyma örnekleri (LSF5, LSF10, LSF15). Bu şekilde hazırlanan kıyma örnekleri 12 gün boyunca 4°C'de

depolanmıştır. Depolama başlangıcından itibaren 0., 4., 8. ve 12. günlerde örnekler alınarak kimyasal analizler yapılmıştır. Depolamanın 2. günü kıyma örneklerinin duyu analizi gerçekleştirilmiştir. Denemeler üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.3. Yenilebilir filmlerin kıyma üzerine uygulanması

3.6.1. pH

10 g kıyma örneği destile su ile 1/10 oranında karıştırılıp ultraturax homojenizatörde 1 dk süresince homojenize edilmiş ve pH değerleri Mettler Toledo S-210K model pH metrede belirlenmiştir.

3.6.2. Tiyobarbitirik asit değeri (TBARS)

Kıyma örneklerinin tiyobarbitirik asit (TBARS) değeri, Mielnik ve ark. (2006) tarafından bildirilen yöntemle göre spektrofotometrik (Shimadzu, UV-1240, Japonya) olarak belirlenmiştir. Yöntem, 2-tiyobarbitirik asit (TBA) ve malondialdehit (MDA) bileşiklerinin reaksiyonu sonucu ortaya çıkan rengin absorbansının 532 nm'de ölçümüne dayanmaktadır. Sonuçlar TEP (1,1,3,3 tetraetoksi propan, Merck) standardı kullanılarak çizilen kurveden hesaplanmış ve mg malonaldehit /kg et (mg MDA /g et) olarak ifade edilmiştir.

3.6.3. Duyusal analiz

Duyusal analiz, Sakarya Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde 8 kişilik yarı eğitimli bir panel ile gerçekleştirilmiştir. 4°C'de 2 gün depolanmış her gruptan alınan örnekler (K, FK, LSF5, LSF10 ve LSF15) ayrı ayrı teflon tavalarda pişirildikten sonra

alüminyum folyo ile kaplanmış ve analizden önce ılık bir fırında (yaklaşık 40°C) muhafaza edilmiştir. Her örnek üç basamaklı rastgele sayılarla kodlanmış beyaz plastik kaplara yerleştirildikten sonra su ve kraker eşliğinde panelistlere servis edilmiştir (Şekil 3.5). Panelistler, her örneği görünüş, renk, koku, lezzet, yapı (tekstür) ve genel beğeni özelliklerini dokuz noktalı bir hedonik ölçek kullanarak değerlendirmişlerdir (1: son derece kötü, 9: mükemmel). Duyusal analizde kullanılan form Şekil 3.4.'de verilmiştir.

| Panelistin Adı Soyadı: | | Tarih: | | | |
|--|---------------|---------------|--|--|--|
| Kıyma örneklerini aşağıda verilmiş olan kalite kriterleri açısından değerlendiriniz. | | | | | |
| Kalite kriterleri | Örnek kodları | | | | |
| | | | | | |
| Görünüş | | | | | |
| Renk | | | | | |
| Koku | | | | | |
| Tat | | | | | |
| Genel kabul edilebilirlik | | | | | |

9: mükemmel, 8: çok iyi, 7: iyi, 6: iyinin altı ortanın üstü, 5: orta, 4: ortanın altı kötünün üstü, 3: kötü, 2: çok kötü, 1: aşırı kötü

Şekil 3.4. Duyusal analiz panelist formu



Şekil 3.5. Duyusal analiz için hazırlanan örnekler

3.6.4. Filmle kaplanmış kıyma örneklerinde *E. coli* O157:H7 inaktivasyonu

Film örnekleri yüzey sterilizasyonu sağlamak amacıyla steril kabinde 2 saat süre ile UV ışığına maruz bırakılmıştır. *E. coli* O157:H7 TSBYE besiyerinde 37°C’da 24 saat inkübe edilerek aktive edilmiştir. Işınlanmış kıyma örnekleri aseptik koşullarda 10±0,5 g tartılmış ve herbir kıyma örneğine son konsantrasyon ~4 log kob/g olacak şekilde 24 saatlik kültürden 500 µL inoküle edilmiştir. Örnekler steril stomacher poşetlerine yerleştirilerek ısıyla kapatılmıştır. *E. coli* O157:H7 inokule edilen örnek grupları, (1) filmle kaplanmamış kıyma örneği (C), (2) sıvı tütsü içermeyen zencefil nişastasası filmleri ile kaplanmış kıyma örnekleri, (3) %5, %10 ve %15 konsantrasyonda sıvı tütsü içeren zencefil nişastasası filmleriyle kaplı kıyma örnekleri (LSF5, LSF10, LSF15) olarak belirlenmiştir. Kıyma örnekleri 12 gün boyunca 4°C’de depolanmıştır. Depolamanın 0., 2., 4., 6. 8., 10. ve 12. günlerinde örnek alınarak maximum recovery diluent (MRD, Merck) ile belirli aralıkta seyreltilmiştir. Tüm seyreltilerden Tryptic Soy Agar Yeast Extract (TSAYE, Merck) besiyerine standart yayma plak yöntemi ile ekim yapılmıştır. 37 °C’da 24 saat inkübasyon sonrasında besiyerinde oluşan koloniler sayılmıştır. Elde edilen sonuçlar log kob/g olarak ifade edilmiştir.

3.7. İstatistik Analiz

Araştırma sonucunda elde edilen sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi SPSS (ver.20.0, SPSS Inc., Chicago IL) istatistik paket programı kullanılarak varyans analiz tekniği (ANOVA) ile yapılmış ve farklılık görülen gruplarda farklılığın hangi düzeyde olduğu Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanarak ($p<0,05$) belirlenmiştir.

BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Yenilebilir Filmlerin Karakterizasyonu

4.1.1. Partikül büyüklüğü ve zeta potansiyeli

Koloidal sistemlerin kararlılığı, askıdaki ve bitişindeki parçacıklar arasındaki elektrostatik itmeye büyük ölçüde bağlıdır ve zeta potansiyeli analizi, emülsiyonların veya koloidal sistemlerin dağılımını ve topaklanmasını tanımlayan kararlılıklarını belirlemek için sıklıkla kullanılır. Koloidal sistemler, birleşmeyi önlemek ve fiziksel olarak kararlılığı sürdürmek amacıyla, damlacıklar arasında yeterli elektrostatik itme için ± 25 mV zeta potansiyel değerine ihtiyaç duymaktadır (Gul ve ark. 2018). Ultrasonikasyonun zencefil nişasta-bazlı CSLS emülsiyonlarının ortalama ζ -potansiyeli ve parçacık boyutu üzerindeki etkisi Tablo 4.1.'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Partikül büyüklüğü ve zeta potansiyeli

| Film örneği | Zeta potansiyeli (mV) | Partikül büyüklüğü (nm) |
|----------------|--------------------------------|---------------------------------|
| Kontrol | -17,90 \pm 0,36 ^a | 242,40 \pm 5,15 ^a |
| LS5 | -18,17 \pm 0,15 ^a | 222,77 \pm 32,85 ^a |
| LS10 | -18,27 \pm 0,59 ^a | 234,93 \pm 12,48 ^a |
| LS15 | -18,30 \pm 0,56 ^a | 218,43 \pm 28,92 ^a |

a-d: Aynı sütünde yer alan örnekler arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir ($p < 0,05$)

Tüm dağılımlar negatif ζ -potansiyel değerlerine (17,90 \pm 0,36 – 18,30 \pm 0,56) sahiptir ve formülasyonlar arasında önemli bir farklılık yoktur ($p > 0,05$). Negatif ζ - potansiyeli, sıvı dumanın karboksilik gruplarından kaynaklanmaktadır (Saloko ve ark. 2013). ζ -potansiyel, anyonik, katyonik veya iyonik olmayan yapıda olabilen, adsorbe edilmiş sürfaktanların yükü tarafından kontrol edilen damlacıkların arayüzeyindeki yüzey yükünü belirler. Bu çalışmada hazırlanan nanoemülsiyonlar iyonik olmayan bir sürfaktan içermektedir (Tween 80). Ziani ve ark. (2011), Tween 80

nanoemülsiyonlarının az miktarda negatif yüke sahip olduğunu ve bunun da serbest yağ asitleri gibi sürfaktandaki anyonik safsızlıklar veya anyonik türlerin sudan damlacık yüzeyine absorpsiyonu ile ilişkilendirilebileceğini bildirmiştir. Acevedo-Fani ve ark. (2015) ise adaçayı uçucu yağı içeren Tween 80 nanoemülsiyonların yüzeyinde negatif yük bulunduğunu göstermiş ve bunu uçucu yağdaki iyonlaşabilir grupların varlığı ile ilişkilendirmiştir. Zeta potansiyel değeri, -10mV 'den daha az negatif olduğunda veya 10mV 'den daha düşük sonuç verdiğinde, süspansiyon son derece kararsızdır ve bu durum elde edilen yenilebilir filmin fiziksel özelliklerinin belirli uygulamalar için kullanılmasını zorlaştırmaktadır (Sabbah ve ark. 2016). Bu nedenle elde edilen sonuçlar doğrultusunda film formülasyonun kararlı bir yüzey yüküne ($-18,30$ ile $-17,90$ mV arasında) sahip olduğu ifade edilebilir. Çeşitli film özellikleriyle (şeffaflık, su buharı geçirgenliği, filmlerin yüzey pürüzlülüğü gibi) ilişkili oldukları için, film çözeltilerinin partikül boyutları ölçülmüştür. Kontrol film çözeltisi ile CSLS içeren film çözeltileri $218,43$ nm ile $242,40$ nm arasında değişen küçük partikül boyutları sergilemiş ve LS ile işlem görmüş ve görmemiş filmlerde önemli bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Ultrasonik yöntemler ile üretilen nanoemülsiyonlar için benzer partikül boyutu sonuçları Shanmugam ve ark. (2012), Capitaniet ve ark. (2016), Gul ve ark. (2018) ve Chu ve ark. (2020) tarafından yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir.

4.1.2. Filmlerin görünüş ve optik özellikleri

Renk ve opaklık, filmin görünümünü ve şeffaflığını etkileyen önemli kalite parametreleridir ve dolayısıyla, parlaklık ve renk genellikle gıda kalitesiyle ilişkilendirildiğinden, bunlar tüketicinin gıda ürünlerine yönelik algısını da etkilemektedir (Xu ve ark. 2018). Ultrases işleminin ve sıvı tütünü zencefil nişasta bazlı nano-emülsiyon filmlerin renk özellikleri (L^* , a^* , b^*) ve opaklığı üzerine etkisi araştırılmıştır (Tablo 4.2). CSLS ilavesi sonucunda L (parlaklık) parametresi azalmıştır ($p<0,05$). Sıvı tütünü eklenmesi, daha yüksek a^* ve b^* değerleriyle belirtildiği üzere, zencefil nişasta filmlerinde, CSLS içermeyen filmlere kıyasla sarılıkta ve kırmızılıkta artışa neden olmuştur (Tablo 4.2). CSLS'nin filmlere %10 ve %15 konsantrasyonda ilave edilmesi, hem a^* hem de b^* değerlerinde artışa neden olmuştur. Sonuç olarak,

zencefil nişasta bazlı filmlerin karakteristik renksiz özelliği, yenilebilir film formülasyonunda artan CSLS konsantrasyonlarının ilavesi sonucu açık sarıya dönüşmüştür ($p<0,05$). Bu bulgu, sıvı tütsünün eklenmesinin kullanılan konsantrasyona bağlı olarak filmlerin optik özelliklerini etkilediğini ortaya koyan önceki çalışmalarla uyumludur (Soazo ve ark. 2016; Wang ve ark. 2016).

Tablo 4.2. Filmlerin görünüş ve optik özellikleri

| Film Örnekleri | L^* | a^* | b^* | Opaklık |
|----------------|-------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|
| Kontrol | 90,60±0,10 ^a | 1,49±0,02 ^b | 5,47±0,10 ^b | 1,20±0,04 ^b |
| LS5 | 90,30±0,14 ^b | 1,50±0,05 ^b | 5,65±0,23 ^b | 1,34±0,25 ^{ab} |
| LS10 | 90,28±0,18 ^b | 1,57±0,06 ^a | 6,08±0,21 ^a | 1,47±0,09 ^a |
| LS15 | 90,20±0,08 ^b | 1,61±0,04 ^a | 6,10±0,13 ^a | 1,50±0,13 ^a |

a-d: Aynı sütünde yer alan örnekler arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir ($p<0,05$)

CSLS film formülasyonuna eklendiğinde opaklık artmış ve bu etki değerlendirilen tüm CSLS konsantrasyonlarında gözlenmiştir ($p<0,05$). Bununla birlikte, opaklık değerindeki artışa rağmen tüm filmlerin şeffaf olduğu görülmüştür (Şekil 4.1.). Film şeffaflığı özellikle gıda ambalajı uygulamalarında oldukça önemlidir ve ürününün tüketici tarafından kabul edilirliliğini etkilemektedir. Önceki çalışmalara benzer opaklık sonuçları elde edilen bu çalışmada, sıvı duman ilavesi film opaklığını artmıştır (Soazo ve ark. 2016; Wang ve ark. 2016). Ultrasonik işlemin filmlerin şeffaflığını artırdığı literatürde rapor edilmiştir. Nişasta jelinin ultrasonikasyonundan sonra mısır nişasta filmlerinin fiziksel ve mekanik özellikleri, nişasta filminin homojenliğindeki artışa bağlı olarak iyileşmekte ve US filmin şeffaflığının artmasına neden olmaktadır (Abral ve ark., 2019).



Şekil 4.1. Filmlerin görünüş ve optik özellikleri

4.1.3. Filmlerin bariyer ve mekanik özellikleri

Nişasta, çok amaçlı biyopolimerlerden biridir ve elastomerik kompozitler, biyobozunur ve yenilebilir filmler gibi ambalaj malzemelerini geliştirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, nişasta türevli filmlerin su buharı geçirgenliği, nişasta moleküllerinin hidrofilik olması nedeniyle nispeten yüksektir, bu da geliştirilen filmlerin mekanik özelliklerini etkiler (Dhumal ve ark. 2019). Genellikle, kontrollü su buharı taşınımı, gıda ürünlerinin raf ömrünü uzattığından, ambalaj filmleri için önemlidir. Nişasta bazlı filmlerdeki su buharı taşınımı, su molekülleri ve nişastanın polimerik yapısı arasındaki kuvvetli etkileşimden etkilendiği için, filmlerin kalınlığı WVP ile yakından ilişkilidir (Mei ve ark. 2020). Gıdaların istenilen nem içeriğini sağlamak için, ambalaj filmlerin hem paketin içinde hem de dışında nem transferini kontrol etmesi gereklidir. Bu nedenle, ambalaj filmlerinin WVP değeri mümkün olduğu kadar düşük olmalıdır (Qin ve ark. 2020). Son yıllarda, ambalaj filmin fiziksel ve fonksiyonel özelliklerini iyileştirmek ve gıda ambalajlama uygulamalarını genişletmek için, nişasta filmlerine farklı doğal bileşenler (özellikle bitki ekstratları) ilave edilmektedir.

Farklı CSLS konsantrasyonları ile takviye edilen zencefil nişasta nano filmlerinin WVP değeri 25°C'de incelenmiştir. Zencefil nişasta filmi için WVP değeri $1,54 \pm 0,10$ g·mm/m²h·kPa, olarak bulunmuş ve bu değer CSLS'nin filme dahil edilmesi ile önemli ölçüde azalmıştır. Tablo 4.3.'te gösterildiği gibi, zencefil nişasta-CSLS filmlerinin WVP değerleri, kontrol filminden daha düşüktür ($p < 0,05$). Ayrıca, zencefil nişasta-CSLS filmlerinin WVP değerleri, CSLS içeriğinin artmasıyla kademeli olarak azalmıştır ($p < 0,05$). Nişasta-CSLS filmlerdeki azalan WVP değerleri, nişasta ve CSLS arasındaki moleküllerarası etkileşimler (örneğin hidrojen bağları) ile açıklanabilir. Yeni oluşan hidrojen bağları, nişasta ve CSLS'deki hidrofilik özellik gösteren hidroksil gruplarını azaltabilir, böylece nişasta-CSLS filmlerinin su buharına olan afinitesi azaltılabilir (Qin ve ark. 2019). Wang ve ark. (2016) jelatin-LS filmlerin WVP değerlerinin, LS içeriğinin artmasıyla azaldığını ve artan LS içeriğine bağlı olarak, nemin jelatin filmler içerisindeki difüzyonunun gecikmesinden kaynaklandığını bildirmişlerdir. Yapılan farklı araştırmalarda fenolik ekstrakt ilavesinin polisakkarit

filmlerin WVP değerini azalttığı bildirilmiştir (Saber ve ark. 2017; Cruz-Gálvez ve ark. 2018; Dhumal ve ark. 2019; Mei ve ark. 2020).

Tablo 4.3. Filmlerin kalınlık, bariyer ve mekanik özellikleri

| Film örneği | Kalınlık (mm) | Gerilme direnci (Mpa) | Kopma anında uzama (%) | WVP* |
|----------------|----------------------------|--------------------------|---------------------------|-------------------------|
| Kontrol | 0,1730±0.0021 ^a | 14,28±0,71 ^b | 27,55±4.14 ^b | 1.54±0.10 ^a |
| LS5 | 0,1720±0.0014 ^a | 15,35±0,82 ^a | 33,34±3,14 ^a | 1.38±0.09 ^{ab} |
| LS10 | 0,1716±0.0062 ^a | 15,81±0,62 ^a | 35,92±3,95 ^a | 1.35±0.13 ^b |
| LS15 | 0,1724±0.0048 ^a | 15,74±0,90 ^a | 38,95±4,62 ^a | 1.33±0.03 ^b |

*Su buharı geçirgenliği, (g.mm/m² h.kPa), a-d: Aynı sütünde yer alan örnekler arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir ($p<0,05$)

Genel olarak nişasta filmi, hidrofilik özelliği nedeniyle zayıf nem direncine sahiptir. Diğer taraftan, ultrasonikasyon işlemine tabi tutulmuş filmler daha düşük WVP değerine sahiptir. Önceki çalışmalar, ultrasonikasyona tabi tutulmuş filmlerin polimer matrislerinin daha fazla geçirimsiz ve daha sıkı olmasının, nem geçirgenliğine karşı daha fazla direnç ile sonuçlandığını ileri sürmüştür. Ultrasonikasyon, çözünmeyen ve topaklanmış nişasta taneciklerinin azaltılmasında etkilidir. Bunun nedeni, ultrasonikasyondan kaynaklı ses enerjisinin akustik kavitasyon üretmesidir (Abral ve ark. 2018; Asrofi ve ark. 2018). Abral ve ark. (2019) sonikasyonun sago nişasta jelinin viskozitesini azalttığını, böylece poroziteleri dolduran daha aktif depolimerize zincirlerin oluştuğunu bildirmiştir. Porozitelerin hem boyutu hem de sayısı azalmış ve bu durum da su moleküllerinin difüzyonunun azalmasına neden olmuştur. Ultrasonikasyondan sonra numunenin WVP değeri, ultrasonikasyon öncesine göre daha düşüktür. Bunun nedeni, ultrases ile işlem görmüş filmin polimer yapısının daha sıkı olmasıdır. Bu da su moleküllerinin difüzyona karşı daha fazla direnç göstermesine neden olmaktadır. Roy ve ark. (2020) yüzey-hacim oranını artıran ve polimer zincirlerinin hareketliliğini engelleyen nanometre boyutu nedeniyle, filmlerin su buharı iletim hızının azaldığını bildirmişlerdir. Ayrıca nano nişasta, sahip olduğu çok küçük boyutu nedeniyle filmlerin sıklığını artırabilir ve bu durum da su buharı direncini artırır. Nanopartiküllerin nişasta film matrisine dahil edilmesi nedeniyle nem bariyeri elde edilmiş, bu da su moleküllerinin geçişi için daha kıvrımlı bir difüzyon yoluna neden olmuştur. Nem bariyeri, geçirgenliğin azaltılmasına yardımcı olarak moleküllerin geçiş yolunu uzatır. Shi ve ark. (2013) ile Costa ve ark. (2017), nişasta

filmlerine farklı konsantrasyonlarda nişasta nano kristal ilave ederek çekme mukavemetinde doğrusal bir artış ve WVP değerinde önemli bir düşüş gözlemlenmiştir.

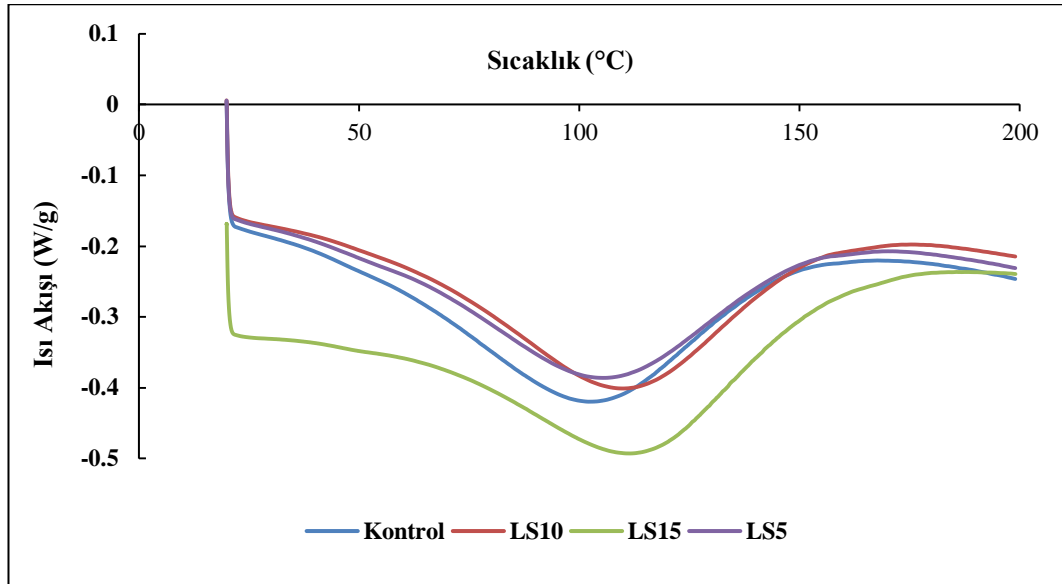
CSLS içeren zencefil nişasta filmlerinin kalınlığı, gerilme direnci (TS) ve kopma anında uzama yüzdesi (EAB) değerleri Tablo 4.3.'te sunulmuştur. Film kalınlığı $0,1730 \pm 0,0021$ ile $0,1716 \pm 0,0062$ mm arasında değişmiş, LS ile işlem görmüş ve görmemiş filmler arasında ciddi bir fark elde edilmemiştir ($p > 0,05$). Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, fenolik ve karboksilik bileşiklerin çeşitli konsantrasyonlarda ilave edilmesinin yenilebilir filmlerin kalınlığını önemli ölçüde etkilemediğini gösteren literatürdeki diğer çalışma sonuçlarıyla tutarlıdır (Wang ve ark. 2016; Soazo ve ark. 2016) ve fenolik ve karbonil bileşiklerinin film kalınlığını etkilemeden film matrisi içerisinde dağıtılabildiğini göstermektedir.

Filmin mekanik özellikleri, ambalajlanmış bir ürünün bütünlüğünü koruma açısından oldukça önemlidir. Mekanik test sonuçlarına göre hem TS hem de EAB değerleri kontrol filme kıyasla önemli ölçüde arttığı için CSLS ilavesi filmlerin mekanik özelliklerini iyileştirmiştir ($p < 0,05$). CSLS içermeyen filmler $14,28 \pm 0,71$ MPa'lık bir TS değerine sahip iken CSLS'nin %15 oranında ilavesi bu değeri $15,81 \pm 0,62$ MPa'ya artırmıştır ($p < 0,05$). Aynı zamanda EAB değerleri $27,5 \pm 4,14$ 'ten $38,95 \pm 4,62$ 'ye yükselmiştir. Zencefil nişasta-CSLS filmlerinin TS ve EAB değerleri CSLS içeriğinin artmasıyla artmış, ancak konsantrasyonlar arasındaki farklılıkların istatistiki açıdan önemli olmadığı belirlenmiştir ($p > 0,05$). Bu iyileşme, filmlere CSLS ilavesi ile ilgili olabilir, bu da büyük ihtimalle karboniller gibi yapı içerisinde fazla miktarda bulunan reaktif maddelerin rolünden kaynaklanmış olabilir. Bu sonuç, LS ilavesinin, LS konsantrasyonuna bağlı olarak filmlerin gerilme direncini artırdığı sonucuna ulaşan önceki çalışmalarla uyumludur (Soazo vd. 2016; Wang vd. 2016). Nişasta, jelatin ve fenolik bileşikleri arasında hidrojen bağı ile oluşan moleküllerarası etkileşimlerin filmlerin mekanik özelliklerini geliştirdiği literatürde rapor edilmiştir (Najva ve ark. 2020). Liu ve ark. (2021), ultrasonik işlemin filmin çekme mukavemetinde önemli bir artış sağladığını belirterek, polimer matrisindeki değişikliklerin ultrasonikasyonun etkisinden kaynaklandığını ve bu durumun filmin kuruması sırasında film oluşum bileşenleri arasında daha kompakt ve sıkı bir yapı oluşturduğunu bildirmiştir. Abral ve

ark. (2019) tarafından yapılan çalışmaya göre, film oluşum süspansiyonundaki kümeleşmenin parçalanması sonucu, ultrasonik işlem görmüş numunelerde daha homojen bir matris elde edilmiş ve böylece film mukavemeti için daha etkili olduğu ortaya konulmuştur.

4.1.4. Filmlerin termal özellikleri

Farklı oranlarda hindistan cevizi kabuğu sıvı tütsü (CSLS) içeriği ile takviye edilmiş zencefil nişasta filmlerinin, DSC termogramları ise Şekil 4.2.'de verilmiştir.



Şekil 4.2. Zencefil nişasta filmlerinin DSC termogramları

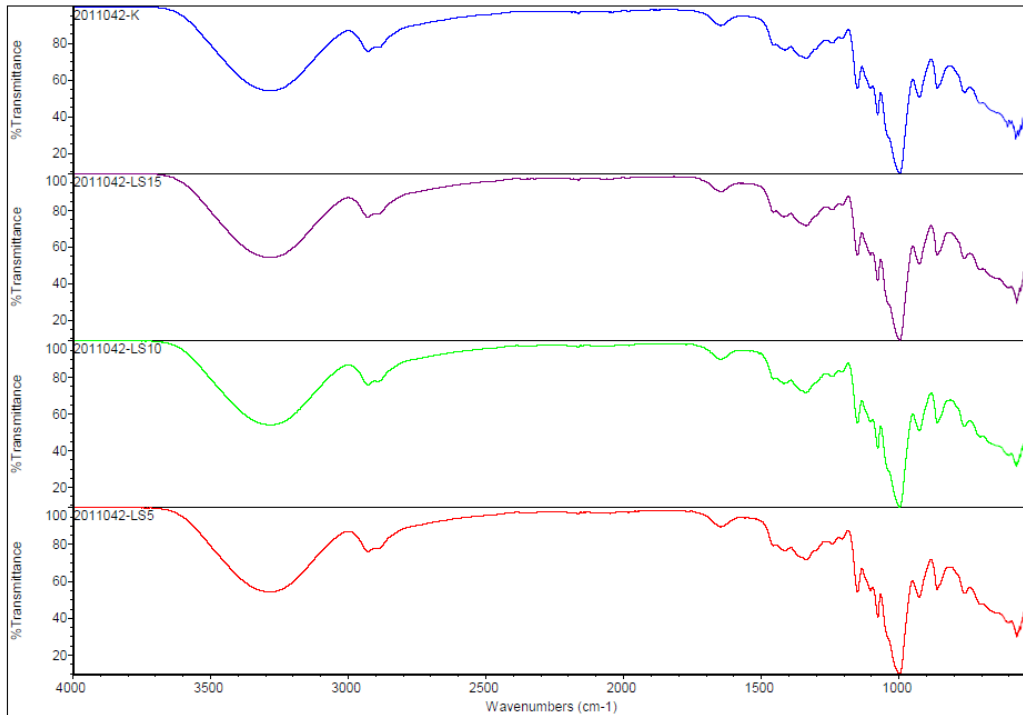
Tüm filmler 42,7°C–183,1°C sıcaklık aralığında endotermik pikler sergilemiştir. Literatürde, nişasta filmlerindeki erime tepkimesinin, film oluşumu sırasında birlikte kristalleşmiş amiloz ve amilopektinden kaynaklanabileceği ve bu durumun amilopektinin sürekli kristalleşmesine neden olacağı bildirilmiştir (Medina Jaramillo ve ark., 2016). CSLS içeren zencefil nişasta filmlerinin erime sıcaklıkları (T_m), CSLS miktarındaki artışa bağlı olarak artmıştır. Şekil 4.2.'de görüldüğü gibi, %0, %5, %10 ve %15 CSLS içeren zencefil nişasta filmlerinin T_m değerleri sırasıyla 101,6°C, 104,2°C, 107,9°C ve 112,5°C'dir ($p < 0,05$). Bu sonuçlar, CSLS ve film bileşenleri arasındaki güçlü etkileşimlerin, nişasta filmlerinin ısıl dayanıklılığını arttırdığını ve

CSLS içermeyen nişasta filmlerine kıyasla kompozit filmlerdeki bileşenler arasındaki etkileşimleri aydınlatmak için yüksek miktarda termal enerjiye gereksinim duyulduğunu göstermiştir. Bu sonuç, Wang ve ark. (2016) tarafından yapılan ve sıvı tütsü eklenmesinin jelatin filmlerin ısı dayanıklılığını bir miktar iyileştirdiği rapor edilen çalışmadaki sonuçlar ile uyumludur. Nisa ve ark. (2015), yeşil çay ekstresi ve BHT'nin eklenmesinin patates nişastasını filmlerinin T_g ve ΔH değerlerini önemli ölçüde artırdığını tespit etmişlerdir. Yaban mersini posalı (Luchese ve ark., 2018) ve kakao kırığı özlü (Kim ve ark., 2018) nişasta filmleri için de benzer bir eğilim gözlenmiştir. Önceki literatür çalışmalarında, zencefil nişastasının erime sıcaklık dağılımının 84,7 °C ile 86,2 °C aralığında olduğu bildirilmiştir (Sukhija ve ark., 2016; Li ve ark., 2020). Bununla birlikte, mevcut çalışmada, CSLS içermeyen, ultrases işlemi uygulanmış zencefil nişasta filminin erime sıcaklığı 101,6°C olarak belirlenmiştir. Ayrıca filmin ısı direncinin ultrasonikasyon ile arttığı bildirilmiştir. Benzer sonuçlar ultrasonikasyon yapılmayan sago nişasta filmlerinin camsı geçiş ve erime sıcaklığının, ultrasonikasyon işlemi uygulanmış filmlere göre daha düşük elde edildiği Abiral ve ark., (2019) tarafından yapılan araştırmada da bildirilmiştir.

4.1.5. FTIR analizi

Farklı konsantrasyonlarda CSLS ile takviye edilmiş zencefil nişastasını bazlı filmlerin FTIR spektrumları Şekil 4.3.'te gösterilmektedir. İki veya daha fazla madde karıştırıldığında, fiziksel karışımlar içerisindeki kimyasal etkileşimler, karakteristik spektrum piklerindeki değişiklikler ile belirlenmektedir (Xu ve ark., 2005). Tüm zencefil nişasta bazlı filmlerin spektrumları benzer bir dağılım göstermiştir. Bu sonuç, CSLS ilavesinin, filmlerin absorpsiyon bant pozisyonlarını ve yapısını önemli ölçüde değiştirmedini göstermiştir. 3281 cm⁻¹'deki güçlü geniş pik, hidroksil gruplarının (O-H) gerilme titreşim frekansı ile ilişkilidir. 2927 ve 2890 cm⁻¹'deki pikler, glikoz için C-H bandının asimetric ve simetric gerilmesini göstermektedir. Serbest O-H bandı gerilmesi ile ilişkili 1646 cm⁻¹'deki absorpsiyon, filmlerdeki artık bağılı sudan kaynaklanıyor olabilir (Xue Mei ve ark., 2020). 996 cm⁻¹'teki belirgin bant, α-1,4 glikozidik bağlantının (C-O-C) iskelet modu titreşimi ile ilişkilidir. 996 cm⁻¹'deki sinyal C-O-C gerilme karakteristiğidir ve α-1,4 glikozidik bağlantılarının var olduğunu

gösterir. Benzer bir gözlem Zhang ve ark. (2015), Li ve ark. (2020), ve Gao ve ark. (2021) tarafından yapılan çalışmalarda da rapor edilmiştir. Abral ve ark. (2019), yaklaşık 3300 cm^{-1} 'deki pikteki transmittans değerlerinin uzun ultrasonik süreler için daha da yükseldiğini öne sürmüştü ve bu artan transmittans değerinin, filmin ultrasonikasyondan sonra daha yüksek derecede hidrofobik olması ile ilişkilendirmiştir. Bu bulgu, zencefil nişasta filmlerinin iyileştirilmiş su buharı bariyer özelliklerini desteklemiştir.



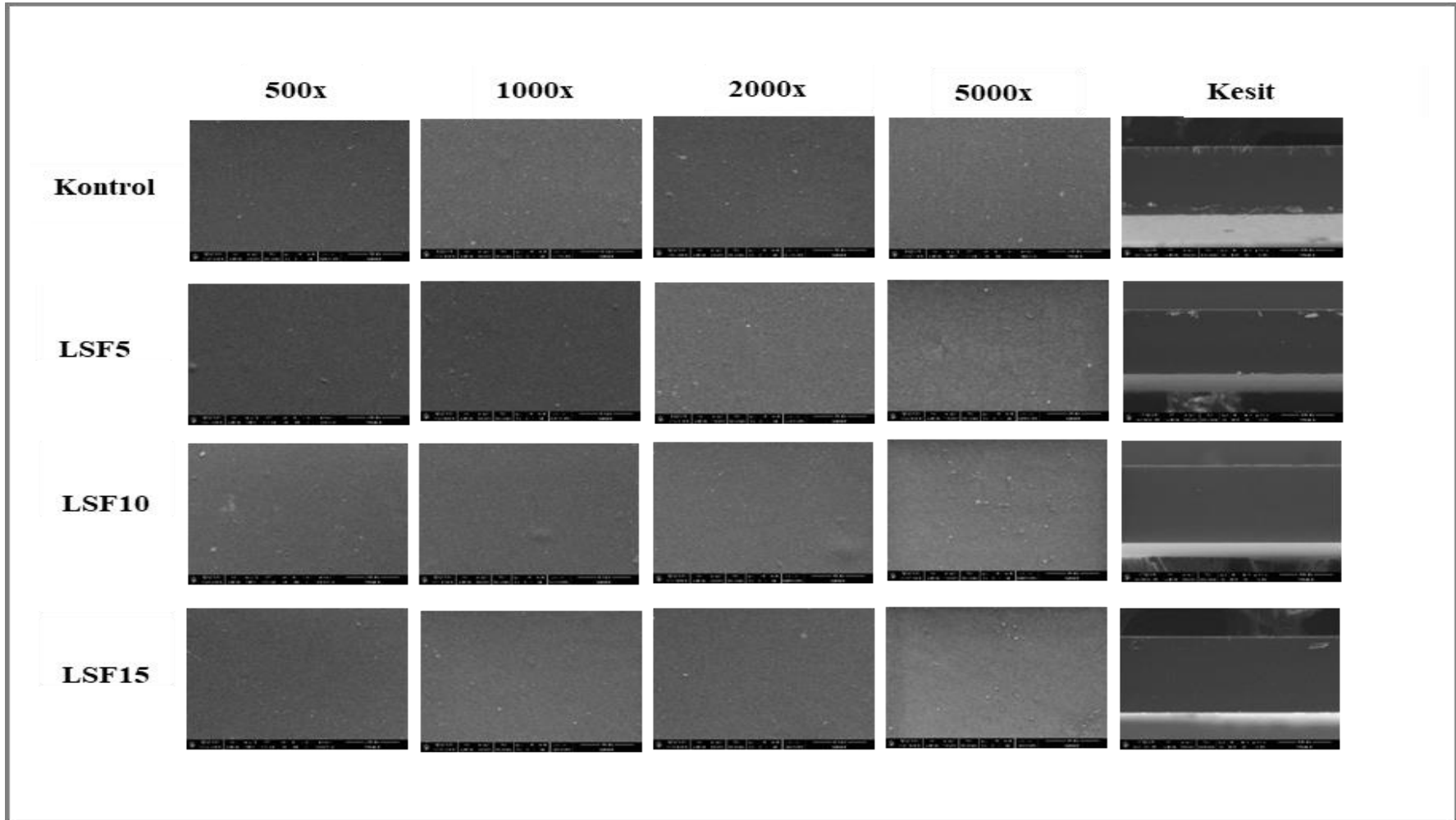
Şekil 4.3. Yenilebilir filmlerin FTIR spektrumları

4.1.6. Filmlerin yapısal özellikleri

Yenilebilir filmlerin yüzey yapılarındaki farklılıklar, bariyer özelliklerine katkıda bulunabilir. Örneğin, gevşek ve gözenekli bir yüzey ve enine kesit yapısı, zayıf bariyer özelliklerine yol açar. Bu nedenle, WVP değerlerinde önemli bir değişikliklere neden olan ultrasonikasyon işlemi uygulandıktan sonra filmlerin mikroyapı görüntüleri araştırılmıştır. Film yüzeylerinin ve kesitlerinin içyapı görüntüleri Şekil 4.4.'te verilmiştir. Filmler, herhangi bir büyük çatlak, delik veya faz ayrımı olmaksızın homojen bir yapı göstermiştir. Bu sonuçlar, zencefil nişastası ve CSLS'nin filmlerde

homojen bir karışım oluşturduğunu ortaya koymuştur. CSLS, nişasta-gliserol matrisine başarıyla ilave edilmiştir. Benzer şekilde Wang ve ark. (2016), jelatin-LS filmlerin pürüzsüz ve homojen bir yüzey gösterdiğini bildirmiş, bu da LS ilavesinin film morfolojisi üzerinde hiçbir etkisi olmadığını ortaya koymuştur. Bununla birlikte, aynı çalışmada LS ile işlem görmüş filmlerin enine kesiti, LS ile işlem görmemiş filmlere kıyasla biraz daha iri taneli bir yapı göstermiştir. Birkaç çalışmada, fenolik ekstratının hidrojen bağlarının moleküllerarası etkileşimine dahil edilmesi sonucu, polisakkarit filmin daha kompakt ve yoğun mikroyapısının elde edilebileceği bildirilmiştir (Menzel ve ark. 2019; Menzel ve ark. 2020).

Ultrasonik işlemin nişasta bazlı yenilebilir filmlerin yapısı üzerindeki etkisi daha önce araştırmacılar tarafından incelenmiştir. Liu ve ark. (2021), film oluşum süspansiyonunun ultrasonik işlemde geçirilmesinden sonra, işlem görmemiş malzemeye kıyasla, polimer film yüzeyinin daha pürüzsüz ve daha homojen hale geldiğini bildirmiştir. Ayrıca, film oluşum süspansiyonundaki kümeleşme ultrasonikasyon işlemi sırasında kademeli olarak parçalanır, böylece ultrasonik işlemde geçirilmiş numuneler, düzensiz bir yapıdan ziyade, homojen ve kompakt bir yüzeye sahip olur. Başka bir çalışmada, ultrasonik işlem görmüş filmlerde daha homojen ve daha pürüzsüz yüzeylerin elde edildiği, ayrıca işlem süresinin ve ultrasonik genliğinin artmasıyla, polimer matris ve yüzeyinin daha kompakt ve pürüzsüz hale geldiği belirtilmiştir (Abral ve ark. 2019).

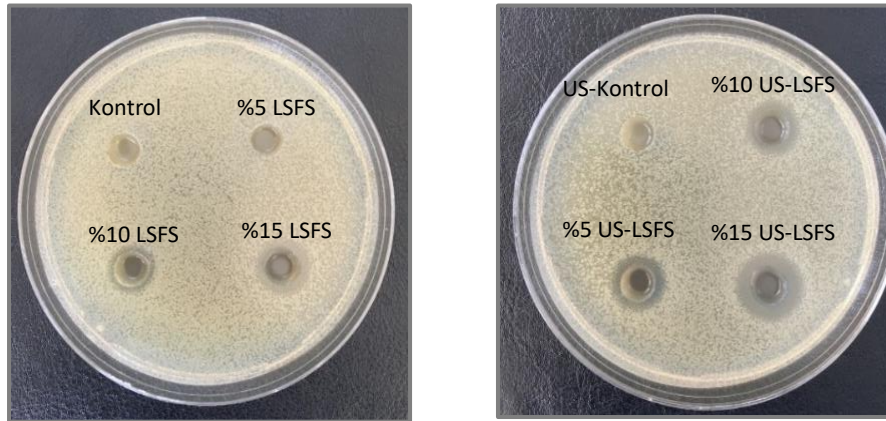


Şekil 4.4. Zencefil nişasta filmi örneklerine ait FESEM görüntüleri

4.1.7. Yenilebilir film çözeltisinin antibakteriyel aktivitesi

Test bakterilerine karşı ultrasonikasyon işlemi uygulanmış ve uygulanmamış farklı konsantrasyonlarda CSLS içeren zencefil nişastasası film solüsyonlarının antibakteriyel aktiviteleri Tablo 4.4.'te özetlenmiştir. CSLS içermeyen tüm zencefil nişastasası film solüsyonları test edilen bakterilere karşı herhangi bir aktivite göstermemiştir. Buna karşın film solüsyonundaki CSLS miktarının artırılması, US işlemi uygulanmamış %5 CSLS içeren örnek haricindeki diğer tüm örneklerde, hem Gram-pozitif hem de Gram-negatif bakterilere karşı önemli ölçüde antibakteriyel aktivite ile sonuçlanmıştır ($p<0,05$). Bu sonuç literatürdeki diğer çalışmalar ile uyumludur (Zuraida ve ark. 2011; Saloko ve ark. 2014; Kailaku ve ark. 2017b). Hindistan cevizi kabuğu sıvı tütsünün, antibakteriyel aktivitede önemli bir rol oynayan 22- methoxyphenols (guaiacol), phenol, 4-ethyl-2-methoxyphenol (EMP), syringol, carbonyl ve organik asitler gibi fenolik bileşikler içerdiği belirtilmektedir (Surboyo ve ark., 2019). Tablo 4.4'te gösterildiği gibi, antibakteriyel etki US işlemi sonucunda önemli ölçüde artmıştır ($p<0,05$). Ultrasonik kavitasyondan kaynaklı partikül boyutunun azalması, CSLS'nin yüzey alanını artırmış ve böylece CSLS'nin test edilen bakteriler üzerindeki antibakteriyel aktivitesi US işleminden sonra iyileştirilmiş olabilir (Jambrak ve ark., 2009). Bu sonuçlar, CSLS'nin nanoemülsiyona dönüştürülmesinin antibakteriyel aktivitelerini geliştirdiğini gösteren diğer çalışmalarla uyumludur (Saloko ve ark., 2014; Ceylan ve ark., 2018). US ile işlem görmüş film solüsyonları, test edilen bakteriler arasında Gram-pozitif bakterilere karşı en yüksek inhibisyon bölgesine sahiptir. %15 CSLS içeriğinde, en yüksek antimikrobiyal aktivite, $14,67 \pm 0,58$ mm inhibisyon bölgesi çapı ile *S. aureus*'a karşı, ardından sırayla $14,33 \pm 0,58$ mm çap ile *B. cereus* ve $14,33 \pm 0,58$ mm çap ile *L. monocytogenes*'a karşı gösterilmiştir. Bu varyasyonlar, Gram-negatif ve Gram-pozitif bakteriler arasındaki hücre yüzey yapılarındaki farklılıkları ortaya koyabilir. Saloko ve ark. (2014), hindistan cevizi kabuğu sıvı tütsü nanokapsüllerinin bakteri üremesine karşı güçlü inhibisyon gösterdiğini ve en yüksek antimikrobiyal aktivitenin *E. coli* ve *P. fluorescens* gram-negatif bakterilerine karşı gerçekleştirildiğini bildirmiştir. Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriler, sıvı tütsüye maruz kaldıklarında farklı davranışlar gösterebilir ve aynı organizmanın farklı suşlarında farklı duyarlılıklar olabilir ve bu durum

mikrobiyal inhibisyondan sorumlu mekanizma ve bileşikleri tanımlamayı zorlaştırır (Lingbeck ve ark., 2014). Sıvı tütüsündeki fenolik bileşiklerin antibakteriyel etki mekanizmaları; hücre duvarını bozma, hücre zarı geçirgenliğini artırma ve ardından hücre bileşenlerinin sızmasına neden olma olarak bilinmektedir. Karboniller, hücre duvarına nüfuz ederek ve sitoplazma ile sitoplazmik membranda bulunan enzimleri inaktive ederek mikrobiyal büyümeyi engeller (Lingbeck ve ark., 2014). %5, %10 ve %15 oranında sıvı tütüsü ile takviye edilen peynir altı suyu proteini konsantresi bazlı yenilebilir filmler, agar difüzyon testinde *L. monocytogenes* gelişimini önlemede etkili olmuşken, *E. coli*, *S. Typhimurium* ve *S. aureus* bakterilerinin gelişimini engelleyememiştir (Soazo ve ark., 2016). Ticari sıvı tütüsü örneklerinin antimikrobiyal etkileri, tütüsü kaynaklarına ve kompozisyonlarına ve ayrıca dumanı ekstrakte ve konsantre etmek için kullanılan yöntemlere bağlı olarak değişebilir.



Şekil 4.5. Yenilebilir film çözeltisinin *S. aureus*'a karşı antibakteriyel aktivite

Tablo 4.4. Yenilebilir film çözeltisinin antibakteriyel aktivitesi

| Film örnekleri | <i>E. coli</i> | <i>S. aureus</i> | <i>E. coli</i> O157:H7 | <i>L. monocytogenes</i> | <i>B. cereus</i> | <i>S. Enteritidis</i> |
|-------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|
| Kontrol | 0,00±0,00 ^d | 0,00±0,00 ^e | 0,00±0,00 ^d | 0,00±0,00 ^d | 0,00±0,00 ^e | 0,00±0,00 ^d |
| LS5 | 0,00±0,00 ^d | 0,00±0,00 ^e | 0,00±0,00 ^d | 0,00±0,00 ^d | 0,00±0,00 ^e | 0,00±0,00 ^d |
| LS10 | 10,00±0,00 ^{cB} | 10,83±0,29 ^{dA} | 10,00±0,00 ^{cB} | 10,17±0,29 ^{cB} | 10,50±0,50 ^{dAB} | 10,17±0,29 ^{cB} |
| LS15 | 11,83±0,29 ^{bB} | 12,00±0,00 ^{cB} | 12,00±0,00 ^{bB} | 12,33±0,58 ^{bB} | 13,00±0,00 ^{bA} | 11,67±0,58 ^{bB} |
| US-Kontrol | 0,00±0,00 ^d | 0,00±0,00 ^e | 0,00±0,00 ^d | 0,00±0,00 ^d | 0,00±0,00 ^e | 0,00±0,00 ^d |
| US-LS5 | 10,00±0,00 ^{cB} | 10,33±0,58 ^{dB} | 10,00±0,00 ^{cB} | 10,33±0,58 ^{cB} | 11,17±0,29 ^{cA} | 10,17±0,29 ^{cB} |
| US-LS10 | 12,00±0,00 ^{bB} | 13,00±0,00 ^{bA} | 12,17±0,29 ^{bB} | 12,33±0,58 ^{bB} | 13,00±0,00 ^{bA} | 11,67±0,58 ^{bB} |
| US-LS15 | 13,33±0,58 ^{aBC} | 14,67±0,58 ^{aA} | 13,33±0,58 ^{aBC} | 14,33±0,58 ^{aAB} | 14,33±0,58 ^{aAB} | 12,50±0,50 ^{aC} |

a-d: Aynı sütünde yer alan örnekler arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir ($p<0,05$)

A-D: Aynı satırda yer alan örnekler arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir ($p<0,05$)

4.2. Filmlerin Kıyma Örnekleri Üzerine Uygulanması

4.2.1. Kıyma örneklerinin pH ve TBARS değerleri

Farklı filmlerle kaplanmış dana kıymasının 4°C’de depolama boyunca pH değerlerindeki değişimler Tablo 4.5.’te sunulmuştur. Soğuk depolama boyunca, başlangıç pH değerleri (5,81) kontrol (kaplanmamış örnek) ve film kontrol örnekleri (CSLS içermeyen zencefil nişasta filmi ile kaplanmış) için sırasıyla 6,18 ve 5,98’e yükselmiştir. Kontrol ve film kontrol örneklerinin pH değerleri, tüm örnekleme günlerinde, CSLS içeren filmlerle kaplanmış kıyma örneklerinden önemli ölçüde daha yüksektir ($p<0,05$). Kontrol ve film kontrol numunelerinin pH değerlerindeki artış, önceki çalışmalarda da açıklanan mikrobiyal aktivite ile proteinlerin deaminasyonu ile ilişkilendirilebilir (Caetano ve ark., 2018; Amiri ve ark., 2019; Bojorges ve ark., 2020). Sonuçlar, sıvı duman (LS) içeren film ile kaplanmış kıyma örneklerinin depolama sırasında neredeyse sabit pH değerinde kaldığını ve %5, %10 ve %15 CSLS içeren filmlerle kaplanmış kıyma örneklerinin pH değerlerinde önemli bir fark gözlenmediğini göstermiştir ($p>0,05$). Bu durum, depolama süresi boyunca alkali azot bileşiklerinin oluşumunu geciktiren, CSLS’nin mikrobiyal gelişimi üzerindeki inhibe edici etkisine bağlanabilir.

Lipid oksidasyonu, et ve et ürünlerindeki kalitenin bozulmasının başlıca nedenidir. Kıyma örneklerinin depolama boyunca lipid oksidasyonu TBARS değeri ile izlenmiştir. Soğuk depolama süresi boyunca (4°C) kıyma örneklerinin TBARS değerlerinin sonuçları Tablo 4.5.’te gösterilmektedir.

Tablo 4.5. Kıyma örneklerinin pH ve TBARS değerlerinin depolama süresince değişimi

| Deneme Grupları | Depolama zamanı (gün) | | | |
|---------------------|---|---------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | 0 | 4 | 8 | 12 |
| | TBARS değeri (mg malonaldehide/kg örnek) | | | |
| Kontrol | 0,68±0,03 ^{aC} | 2,69±0,09 ^{aB} | 3,44±0,17 ^{aA} | 3,83±0,59 ^{aA} |
| Film kontrol | 0,68±0,03 ^{aC} | 1,89±0,16 ^{bB} | 2,02±0,08 ^{bB} | 2,73±0,61 ^{bA} |
| LS5 | 0,68±0,03 ^{aBC} | 0,66±0,02 ^{cC} | 0,72±0,03 ^{cB} | 0,81±0,02 ^{cA} |
| LS10 | 0,68±0,03 ^{aA} | 0,66±0,02 ^{cA} | 0,71±0,06 ^{cA} | 0,72±0,08 ^{cA} |
| LS15 | 0,68±0,03 ^{aA} | 0,68±0,01 ^{cA} | 0,73±0,02 ^{cA} | 0,73±0,05 ^{cA} |
| | pH | | | |
| Kontrol | 5,81±0,02 ^{aC} | 5,90±0,01 ^{aBC} | 5,98±0,05 ^{aB} | 6,18±0,10 ^{aA} |
| Film Kontrol | 5,81±0,02 ^{aC} | 5,88±0,04 ^{abBC} | 5,91±0,03 ^{bB} | 5,98±0,03 ^{bA} |
| LS5 | 5,81±0,02 ^{aA} | 5,80±0,02 ^{bA} | 5,83±0,05 ^{cA} | 5,83±0,02 ^{cA} |
| LS10 | 5,81±0,02 ^{aA} | 5,78±0,06 ^{bA} | 5,82±0,02 ^{cA} | 5,83±0,03 ^{cA} |
| LS15 | 5,81±0,02 ^{aA} | 5,79±0,06 ^{bA} | 5,79±0,03 ^{cA} | 5,82±0,01 ^{cA} |

a-d: Aynı sütünde yer alan örnekler arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir ($p<0,05$)

A-D: Aynı satırda yer alan örnekler arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir ($p<0,05$)

Bu çalışmada en yüksek TBARS değeri ($3,83\pm0,5$ mg MDA/kg örnek) kaplanmamış örneklerde (kontrol) gözlenmiştir. Film kontrol örneklerinin TBARS değerleri de 12 gün sonunda $2,73\pm0,61$ mg MDA/kg et artmış, ancak değerler tüm saklama aralıklarında kontrol değerlerinden düşük kalmıştır ($p<0,05$). Nişasta bazlı yenilebilir filmler iyi oksijen bariyerleridir, bu nedenle kontrol filminin kullanılması oksijene karşı fiziksel bir koruma sağlamış olabilir. Kaplanmış kıyma örneklerinin TBARS değeri, depolama süresince kaplanmamış kıyma örneklerinden önemli ölçüde daha düşüktür ($p<0,05$). %5, %10 ve %15 CSLS ilaveli film içeren dana kıyma örnekleri, tüm örnekleme günlerinde kontrol ve film kontrol örneklerinin değerlerinden önemli ölçüde daha düşüktür. Elde edilen sonuçlar CSLS'nin buzdolabındaki depolama sırasında lipid oksidasyonuna karşı etkili olduğunu göstermektedir. CSLS'nin antioksidan özellikleri, yüksek fenolik içerikli bileşikler (örneğin 2-methoxyphenols (guaiacol), phenol, 4-ethyl-2-methoxyphenol (EMP), syringol), karboniller ve organik asitler ile ilişkilendirilebilir (Surboyo ve ark., 2019). Benzer sonuçlar, ozmotik çözeltiye sıvı tütsü eklenmesinin, depolama süresi boyunca işlenmiş tüm et örneklerinde lipid oksidasyonunu etkili bir şekilde inhibe ettiğini gözlemleyen Dimakopoulou-Papazoglou ve ark. (2017) tarafından da bildirilmiştir. Estrada-Munoz ve ark. (1998), sıvı dumanla işlem görmüş ve önceden pişirilmiş dana köftelerinin tüm

örnekleme günlerinde daha düşük TBARS değerlerine sahip olduğunu ve antioksidatif özellikler sergilediğini bildirmiştir.

4.2.3. Duyusal analiz sonuçları

Tütsü geleneksel olarak etlere, balıklara ve kümes hayvanlarına uygulanmakta ve ayrıca peynir, soya peyniri gibi gıdalara lezzet katmak için de kullanılmaktadır. Tütsü lezzetinin konsantrasyonu nedeniyle marinatlarda, soslarda veya salamuralarda ve tipik olarak domuz pastırması gibi işlenmiş etlerde kullanım için uygundur (Soares ve ark. 2016). Tütsülenmiş etlerin lezzetinden ve aromasından esas olarak sorumlu olan fenoller guaiacol, 4-methyl-guaiacol, 2,6-dimethoxyphenol ve syringoldür; ilk üç bileşik, lezzetin önemli bir kısmına katkıda bulunurken sonuncu ise aromaya birincil olarak katkıda bulunur (Pino 2014; Mbougoung ve ark. 2020). Hindistan cevizi kabuğu tütsüsü, tüketici kabulünü etkileyen aromatik phenol, 2-methoxyphenol (guaiacol), 4 methylphenol (p-cresol) ve dimethylphenols gibi fenolik bileşikler içerir (Saloko ve ark. 2014).

Tablo 4.6. Duyusal değerlendirme sonuçları

| Örnek | Görünüş | Koku | Renk | Tekstür | Lezzet | Genel Beğeni |
|--------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| Kontrol | 7,71±0,14 ^a | 7,00±0,14 ^a | 7,52±0,36 ^a | 7,14±0,14 ^a | 7,05±0,08 ^a | 7,24±0,08 ^a |
| Film kontrol | 7,67±0,08 ^a | 6,90±0,30 ^a | 7,67±0,22 ^a | 7,10±0,22 ^a | 7,05±0,36 ^a | 7,19±0,33 ^a |
| LS5 | 7,62±0,16 ^a | 7,10±0,68 ^a | 7,52±0,16 ^a | 7,00±0,38 ^a | 6,95±0,50 ^a | 7,14±0,38 ^a |
| LS10 | 7,62±0,36 ^a | 6,86±0,38 ^a | 7,81±0,30 ^a | 7,05±0,22 ^a | 6,71±0,38 ^a | 7,00±0,14 ^a |
| LS15 | 7,43±0,38 ^a | 6,76±0,16 ^a | 7,62±0,08 ^a | 6,90±0,22 ^a | 6,57±0,38 ^a | 6,86±0,29 ^a |

a-d: Aynı sütünde yer alan örnekler arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir ($p < 0,05$)

Duyusal değerlendirmede, dana kıyma örnekleri arasında görünüm, renk, koku, tat ve genel kabul edilebilirlik özellikleri açısından anlamlı farklar bulunmamıştır ($p > 0,05$). Duyusal panelistler, pişmiş kıymanın tadı, kokusu ve genel kabul edilebilirliğine göre kontrol ve film uygulanan gruplarını ayırabilmişlerdir. %5, %10 ve %15 CSLS eklenmiş film içeren örnekler için genel kabul edilebilirlik puanları, kontrol (7,24) ve film kontrol gruplarından (7,19) daha düşüktür (Tablo 4.6.). Bununla birlikte, kontrol ve diğer gruplar arasında genel beğeni puanlarında önemli bir farklılık gözlenmemiştir

($p>0,05$). Nişasta filminde, CSLS konsantrasyonu arttıkça genel beğeni ve tat puanları azalmıştır. Bununla birlikte, CSLS içeren yenilebilir zencefil nişastasası filmi, LS15 grubunda elde edilen en düşük genel kabul edilebilirlik puanı 6,86 olmak üzere, bu çalışmada kullanılan tüm konsantrasyon seviyelerinde kabul edilebilir olarak değerlendirilmiştir (5,0'dan yüksek genel kabul edilebilirlik puanları, kabul edilebilir olarak değerlendirilmektedir). Duyusal değerlendirmeler, %5, 10 ve 15 konsantrasyonlarında CSLS içeren zencefilli nişasta filmlerin, et ürünlerinin duyusal niteliklerini önemli derecede etkilemeden kullanılabileceğini göstermektedir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar ile uyumlu olarak, Morey ve ark. (2012), %2,5, 5 ve 10'luk tütü özütü içeren frankfurter formülasyonunun, frankfurterlerin dokusunu, aromasını ve genel puanları ile sertliğini ve çiğnenebilirliğini etkilemediğini bildirmişlerdir ($p>0,05$). Araştırmacılar; tütünün, kalite özelliklerini olumsuz şekilde etkilemeden, tamamen doğal bir antimikrobiyal olarak sosislerin imalatına dahil edileceğini ifade etmişlerdir. Benzer sonuçlar sığır eti kıymasına tütü eklemenin, genel beğeni üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olmadığını gözlemleyen Pilevar ve ark. (2017) tarafından da bildirilmiştir.

4.2.4. Filmle kaplanmış kıyma örneklerinde *E. coli* O157:H7 inaktivasyonu

Soğuk depolama sırasında filmle kaplanmış veya kaplanmamış kıyma örneklerindeki *E. coli* O157:H7 inhibisyonu sonuçları Tablo 4.7.'de sunulmuştur. *E. coli* O157:H7 bakterisinin ilk sayıları ($4,27\pm 0,05$ log kob/g) hem kontrol hem de film kontrol örneklerinde 12 günlük soğuk depolama boyunca önemli ölçüde değişmemiştir ($p>0,05$). *E. coli* O157:H7 sayıları, depolama süresi boyunca, CSLS içeren yenilebilir filmler ile kaplanmış tüm örneklerde önemli ölçüde azalmıştır ($p<0,05$). CSLS içeren zencefil nişasta filmlerinin, kıyma örneklerinde, *E. coli* O157:H7 bakterisine karşı antimikrobiyal aktivitesinin konsantrasyona bağlı olduğu ve konsantrasyonun *E. coli* O157:H7'yi inhibe etmede önemli bir faktör olduğu belirlenmiştir. CSLS içeren filmlerdeki bakteriyel azalma seviyesinin 2. gün sonunda, CSLS konsantrasyonuna bağlı olarak 0,28-0,65 log kob/g değerleri arasında olduğu belirlendi. Sonuçlara göre, %5, %10 ve %15 CSLS içeren zencefil nişasta filmleri ile 12 günlük depolama boyunca kontrole kıyasla sırasıyla 0,44, 0,95 ve 1,33 log kob/g azalma belirlenmiştir.

Tablo 4.7. Depolama sürecince kıyma örneklerindeki *E. coli* O157:H7 sayısındaki değişim

| Depolama (gün) | Deneme Grupları | | | | |
|-------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|
| | Kontrol | Film kontrol | LS5 | LS10 | LS15 |
| 0 | 4.27±0.05 ^{aA} | 4.27±0.05 ^{aA} | 4.27±0.05 ^{aA} | 4.27±0.05 ^{aA} | 4.27±0.05 ^{aA} |
| 2 | 4,28±0.05 ^{aA} | 4,24±0.06 ^{abA} | 4,00±0.10 ^{bB} | 3,73±0.05 ^{bC} | 3,62±0.06 ^{bD} |
| 4 | 4,27±0.02 ^{aA} | 4,25±0.03 ^{aA} | 3,94±0.06 ^{bcB} | 3,49±0.07 ^{cC} | 3,23±0.09 ^{cD} |
| 6 | 4,24±0.04 ^{aA} | 4,21±0.04 ^{abA} | 3,87±0.03 ^{cdB} | 3,47±0.06 ^{cC} | 3,16±0.14 ^{cdD} |
| 8 | 4,23±0.04 ^{aA} | 4,20±0.05 ^{abA} | 3,81±0.05 ^{dB} | 3,34±0.06 ^{dC} | 3,06±0.04 ^{dD} |
| 10 | 4,23±0.04 ^{aA} | 4,16±0.09 ^{abA} | 3,80±0.03 ^{dB} | 3,29±0.04 ^{dC} | 3,04±0.04 ^{dD} |
| 12 | 4,22±0.04 ^{aA} | 4,14±0.04 ^{abA} | 3,78±0.03 ^{dB} | 3,27±0.06 ^{dC} | 2,89±0.09 ^{dD} |

a-d: Aynı sütünde yer alan örnekler arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir ($p<0,05$)

A-D: Aynı satırda yer alan örnekler arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir ($p<0,05$)

Araştırma kapsamında kıymada *E. coli* O157:H7 bakterisinin inhibe edilmesine yönelik elde edilen bu sonuçlar, literatürdeki çalışma sonuçları ile uyumluluk göstermektedir. *E. coli* O157:H7'ye karşı çeşitli ticari sıvı tütsüleri için minimum inhibisyon (MİK) değerleri Van Loo ve ark. (2012) tarafından rapor edilmiştir. Etkili konsantrasyonlar, sıvı tütsünün ticari markasına bağlı olarak %6 ile %0,5 arasında değişiklik göstermektedir. Bir model et sisteminde sıvı tütsünün *E. coli* üzerindeki etkileri rapor edilmiştir. Dana eti örnekleri, 7 log kob/g STEC suş *E. coli* O157:H7 ile aşılansın ve sıvı tütsü fraksiyonu Kod V'in (Hickory Specialties, Brentwood, TN) %8'lik final konsantrasyonu ile işlenmiştir. Daha sonra köfte haline getirilerek ve ısıyla mühürlenerek 4 °C'de saklanmıştır. Sıvı tütsü ile işlem görmüş örnekler, işlem görmemiş örneklere kıyasla üç günlük soğuk depolama sonunda 2,3 log kob/g azalma göstermiştir (Estrada-Munoz ve ark.,1998). %40 MD + %5 NaCl ozmotik çözeltisine %0,5 sıvı tütsü eklenmesi, sıvı tütsü ile işlem görmemiş örneklere kıyasla işlem görmüş et örneklerinin mikrobiyal popülasyonunu 1 log (kob/cm²) azaltmıştır (Dimakopoulou-Papazoglou ve Katsanidis, 2017). Başka bir çalışmada, %15'lik bir konsantrasyonda seyreltilmiş sıvı tütsü, sadece sertlik değerinde hafif bir azalmanın dışında renk ve doku özelliklerinde önemli değişiklikler olmaksızın, midye etindeki mikrobiyal gelişimi inhibe etmiştir (Xin ve ark., 2021).

Proteinli gıda ürünlerinde LS uygulamasının temel amacı sadece renklendirici ve tatlandırıcı bir madde olarak işlev görmesi değil; aynı zamanda ürünlerin antibakteriyel ve antioksidatif özelliklere sahip olmasını sağlamaktır. Hindistan cevizi

kabuklarından elde edilen LS'nin fenoller, karboniller ve organik asitler gibi biyoaktif bileşikler içerdiği bildirilmektedir. Bu nedenle, CSLS, proteinli gıda ürünlerin raf ömrünü artırma potansiyeline sahiptir. Biyoaktif bileşiklerin nanokapsüllemesi; aktif maddelerin fiziksel dayanıklılığını arttırmak, onları gıda bileşenleri ile etkileşimlerinden korumak ve sahip oldukları hücreiçi boyutu nedeniyle biyoaktivitelerini artırmak amacıyla uygulanabilir, etkili bir yaklaşımdır. Bu sonuçlar, CSLS'nin nanoemülsiyona dönüştürülmesinin antibakteriyel aktivitelerini geliştirdiğini gösteren diğer çalışmalarla uyumludur (Saloko ve ark., 2014; Ceylan ve ark., 2018). CSLS içeren zencefil nişasta filmi, kıyma etinin duyuşal özellikleri üzerinde herhangi bir etki yapmadan, *E. coli* O157: H7'ye karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir.

BÖLÜM 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması kapsamında, ultrases işlemi uygulanarak CSLS'nin farklı konsantrasyonlarının ilavesiyle formüle edilmiş zencefil nişastası temelli nano yenilebilir filmlerin fiziksel, mekanik, bariyer ve yapısal özellikleri belirlenmiş ve CSLS ilave edilmiş filmlerin, sığır eti kıymasının soğuk depolanması süresince kimyasal özellikleri, duyu özellikleri ve *E. coli* O 157:H7 inhibisyonu üzerine etkisi incelenmiştir.

Tez kapsamında elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

1. Ultrases işlemi, filmlerin fiziksel, mekanik, bariyer, mikroyapısal ve antibakteriyel özelliklerini önemli derecede etkilemiştir. Filmlerin mikroyapısı, ultrases işleminden sonra daha homojen hale gelmiş ve bu da su buharı geçirgenliğinin (WVP) azalmasına neden olmuştur.
2. Zencefil nişasta filmi için WVP değeri $1,54 \pm 0,10 \text{ g} \cdot \text{mm} / \text{m}^2 \cdot \text{h} \cdot \text{kPa}$ olarak belirlenmiş ve CSLS içeren zencefil nişastası bazlı filmlerinin WVP değerleri, CSLS içeriğinin artmasına paralel olarak azalmıştır ($p < 0.05$).
3. FTIR sonuçları, CSLS'nin eklenmesinin filmlerin absorpsiyon bant konumlarını ve yapısını önemli ölçüde değiştirmediğini ortaya koymuştur. Bu bulgu, zencefil nişasta filmlerinin iyileştirilmiş su buharı bariyer özelliklerini desteklemektedir.
4. CSLS'nin film formülasyonuna eklenmesi, konsantrasyona bağlı olarak filmlerin optik özelliklerini etkilemiştir. Tütsü ilavesi filmlerin L^* değerinde azalmaya buna karşın a^* ve b^* değerlerinde ise artışa neden olmuştur. CSLS, film formülasyonuna

eklendiğinde opaklık artmış ve bu etki incelenen tüm CSLS konsantrasyonlarında gözlenmiştir ($p<0.05$).

5. Mekanik test sonuçlarına göre, hem gerilme direnci (TS) hem de kopma anında uzama yüzdesi (EAB) değerleri kontrol filmine kıyasla önemli ölçüde artış göstermiştir ($p<0.05$). CSLS ilavesi filmlerin mekanik özelliklerini iyileştirmiştir.

6. CSLS içeren zencefil nişasta filmlerinin erime sıcaklıkları (T_m), CSLS miktarındaki artışa bağlı olarak artmıştır. CSLS ve filmler arasındaki güçlü etkileşime bağlı olarak nişasta filmlerinin ısı dayanıklılığı da artmıştır.

7. Test bakterilerine karşı elde edilen antibakteriyel etki, ultrases işlemi sonucunda önemli ölçüde artmıştır ($p<0.05$). US ile işlem görmüş film solüsyonları, test edilen bakteriler arasında Gram-pozitif bakterilere karşı daha yüksek antibakteriyel etki göstermiştir.

8. CSLS ilave edilmiş filmler, sığır eti kıymasının soğuk depolanması süresince *E. coli* O157: H7'ye karşı antimikrobiyal aktivite göstermiş ve konsantrasyon artışına bağlı olarak inhibisyon oranı da artmıştır.

9. CSLS, depolama süresi boyunca tüm işlenmiş kıyma örnekleri için lipid oksidasyonunu etkili bir şekilde inhibe etmiştir.

10. Duyusal değerlendirmeler, %5, 10 ve 15 konsantrasyonda CSLS içeren zencefil nişasta filmlerin, kıyma örneklerinin duyu niteliklerini önemli derecede etkilemediğini ortaya koymuştur.

Tez kapsamında elde edilen sonuçlar, CSLS'nin, zencefil nişasta filmlerinde antimikrobiyal madde olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğunu ve dolayısıyla ultrases işlemi uygulanarak CSLS ilavesi ile formüle edilmiş zencefil nişastasını temelli nano yenilebilir filmlerin gıda uygulamalarında duyu özellikleri etkilemeden aktif ambalaj malzemesi olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Abbas, S., Bashari, M., Akhtar, W., Li, W. W., Zhang, X. 2014. Process Optimization of Ultrasound-Assisted Curcumin Nanoemulsions Stabilized by Osa-Modified Starch. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(4): 1265-1274.
- Abral, H., Anugrah, A. S., Hafizulhaq, F., Handayani, D., Sugiarti, E., Muslimin, A. N. 2018. Effect of Nanofibers Fraction on Properties of The Starch Based Biocomposite Prepared in Various Ultrasonic Powers. *International Journal of Biological Macromolecules*, 116: 1214-1221.
- Abral, H., Basri, A., Muhammad, F., Fernando, Y., Hafizulhaq, F., Mahardika, M., Sugiarti, E., Sapuan, S. M., Ilyas, R. A., Stephane, I. 2019. A Simple Method For Improving The Properties of The Sago Starch Films Prepared by Using Ultrasonication Treatment. *Food Hydrocolloids*, 93: 93 276-283.
- Acevedo-Fani, A., Salvia-Trujillo, L., Rojas-Graü, M. A., Martín-Belloso, O. 2015. Edible Films from Essential-Oil-Loaded Nanoemulsions: Physicochemical Characterization and Antimicrobial Properties. *Food Hydrocolloids*, 47: 168-177.
- Adilah, A. Nor, B. Jamilah, M. A. Noranizan, Z. A. Nur Hanani. 2018. Utilization of Mango Peel Extracts on the Biodegradable Films for Active Packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, 16: 1-7.
- Alçiçek, Z. 2011. The Effects of Thyme (*Thymus Vulgaris* L.) Oil Concentration on Liquid-Smoked Vacuum-Packed Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss* Walbaum, 1792) Fillets during Chilled Storage. *Food Chemistry*, 128(3): 683-688.
- Alouw, J. C., Wulandari, S. 2020. Present Status and Outlook of Coconut Development in Indonesia. *Iop Conference Series: Earth and Environmental Science*, 418: 012035.
- Amiri, E., Aminzare, M., Azar, H. H., Mehrasbi, M. R. 2019. Combined Antioxidant and Sensory Effects of Corn Starch Films With Nanoemulsion of *Zataria Multiflora* Essential Oil Fortified with Cinnamaldehyde on Fresh Ground Beef Patties. *Meat Science*, 153: 66-74.
- Angellier, H., Molina-Boisseau, S., Dole, P., Dufresne, A. 2006. Thermoplastic Starch - Waxy Maize Starch Nanocrystals Nanocomposites. *Biomacromolecules*, 7(2): 531-539.

- Anggraini, S. P. A., Yuniningsih, S. 2017. Optimizing the Usage of Liquid Smoke from Coconut Shells as Natural Preservative for Fresh Fish. *Reka Buana Journal*, 10(13): 14–20.
- Asrofi, M., Abrial, H., Kasim, A., Pratoto, A., Mahardika, M., Hafizulhaq, F. 2018. Mechanical Properties of a Water Hyacinth Nanofiber Cellulose Reinforced Thermoplastic Starch Bionanocomposite: Effect of Ultrasonic Vibration During Processing. *Fibers*, 6(2): 40.
- ASTM, ASTM International. 2007. Standard Test Methods for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. D882-02 Annual Book of ASTM Standards 14.02. United States.
- Avella, M., De Vlieger, J. J., Errico, M. E., Fischer, S., Vacca, P., Volpe, M. G. 2005. Biodegradable Starch/Clay Nanocomposite Films for Food Packaging Applications. *Food Chemistry*, 93(3): 467-474.
- Ayana, B., Turhan, K. N. 2010. Gıda Ambalajlamasında Antimikrobiyal Madde İçeren Yenilebilir Filmler/ Kaplamalar Ve Uygulamaları. *Review*, 35(2): 151-158.
- Becher, P., Fishman, M. M. 1959. Emulsions—Theory and Practice. *Journal of the Electrochemical Society*, 106(4): 108c.
- Bojorges, H., Ríos-Corripio, M. A., Hernández-Cázares, A. S., Hidalgo-Contreras, J. V., Contreras-Oliva, A. 2020. Effect of the Application of an Edible Film with Turmeric (*Curcuma Longa L.*) On The Oxidative Stability of Meat. *Food Science and Nutrition*, 8(8).
- Bonilla, J., Talón, E., Atarés, L., Vargas, M., Chiralt, A. 2013. Effect of the Incorporation of Antioxidants on Physicochemical and Antioxidant Properties of Wheat Starch-Chitosan Films. *Journal of Food Engineering*, 8(8) 4308-4319.
- Borate, P. P., Disale S. D., Ghalme R. S. 2013. Studies on Isolation, Analysis and Antimicrobial Properties of Coconut. *International Journal of Advanced Scientific and Technical Research*, 2(3): 147-157.
- Bordes, P., Pollet, E., Avérous, L. 2009. Nano-Biocomposites: Biodegradable Polyester/Nanoclay Systems. In *Progress in Polymer Science (Oxford)*, 34(2): 125-155.
- Bumbudsanpharoke, N., Ko, S. 2015. Nano-Food Packaging: An Overview of Market, Migration Research, and Safety Regulations. *Journal of Food Science*. 80(5): R910-R923.
- Candan, T., Bağdatlı, A. 2018. Gıda Ürünlerinde Yenilebilir Film Ve Kaplama Uygulamaları. *El-Cezeri Fen ve Mühendislik Dergisi*, 5(2) 645-655.
- Cano, A., Jiménez, A., Cháfer, M., González, C., Chiralt, A. 2014. Effect Of Amylose: Amylopectin Ratio and Rice Bran Addition on Starch Films Properties. *Carbohydrate Polymers*. 111:543-555.

- Capitani, M. I., Nolasco, S. M., Tomás, M. C. 2016. Stability of Oil-In-Water (O/W) Emulsions with Chia (*Salvia Hispanica* L.) Mucilage. *Food Hydrocolloids*, 61: 537-546.
- Ceylan, Z., Unal Sengor, G. F., Yilmaz, M. T. 2018. Nanoencapsulation of Liquid Smoke/Thymol Combination in Chitosan Nanofibers to Delay Microbiological Spoilage of Sea Bass (*Dicentrarchus Labrax*) Fillets. *Journal of Food Engineering*, 229: 43-49.
- Chen, C. C., Wagner, G. 2004. Vitamin E Nanoparticle for Beverage Applications. *Chemical Engineering Research and Design*.
- Chen, H., Weiss, J., Shahidi, F. 2006. Nanotechnology in Nutraceuticals and Functional Foods. *Food Technology*, 82(11): 1432-1437.
- Cheng, W., Chen, J., Liu, D., Ye, X., Ke, F. 2010. Impact of Ultrasonic Treatment on Properties of Starch Film-Forming Dispersion and the Resulting Films. *Carbohydrate Polymers*, 81(3): 707-711.
- Chiumarelli, M., Ferrari, C. C., Sarantópoulos, C. I. G. L., Hubinger, M. D. 2011. Fresh Cut Tommy Atkins Mango Pre-Treated with Citric Acid and Coated with Cassava (*Manihot Esculenta* Crantz) Starch or Sodium Alginate. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 12(3): 381–387.
- Chu, Y., Cheng, W., Feng, X., Gao, C., Wu, D., Meng, L., Zhang, Y., Tang, X. 2020. Fabrication, Structure and Properties of Pullulan-Based Active Films Incorporated with Ultrasound-Assisted Cinnamon Essential Oil Nanoemulsions. *Food Packaging and Shelf Life*, (25): 100547
- Çinar, K. 2017. A Review on Nanoemulsions: Preparation Methods and Stability. *Trakya University Journal of Engineering Sciences*, 18(1):73-83.
- Coma, V. 2008. Bioactive Packaging Technologies for Extended Shelf Life of Meat-Based Products. *Meat Science*, 78(1–2): 90–103.
- Costa, É. K. De C., De Souza, C. O., Da Silva, J. B. A., Druzian, J. I. 2017. Hydrolysis of Part of Cassava Starch into Nanocrystals Leads to Increased Reinforcement of Nanocomposite Films. *Journal of Applied Polymer Science*, 134(41).
- Cruz-Gálvez, A. M., Castro-Rosas, J., Rodríguez-Marín, M. L., Cadena-Ramírez, A., Tellez-Jurado, A., Tovar-Jiménez, X., Chavez-Urbiola, E. A., Abreu-Corona, A., Gómez-Aldapa, C. A. 2018. Antimicrobial Activity and Physicochemical Characterization of a Potato Starch-Based Film Containing Acetonic and Methanolic Extracts of *Hibiscus Sabdariffa* for Use in Sausage. *Lwt*, 93: 300-305.
- Curvelo, A. A. S., De Carvalho, A. J. F., Agnelli, J. A. M. 2001. Thermoplastic Starch-Cellulosic Fibers Composites: Preliminary Results. *Carbohydrate Polymers*, 45(2): 183-188.

- Dai, L., Qiu, C., Xiong, L., Sun, Q. 2015. Characterisation of Corn Starch-Based Films Reinforced with Taro Starch Nanoparticles. *Food Chemistry*, 174:82-88.
- Darmadji, P., Triyudiana, H. 2006. Proses Pemurnian Asap Cair dan Simulasi Akumulasi Kadar Benzopyrene Pada Proses Perendaman Ikan. *Jurnal Fakultas Teknologi Pertanian UGM* (2014), 26(2):74-83.
- Davidson, P. M., Taylor, T. M., Schmidt, S. E. 2014. Chemical Preservatives and Natural Antimicrobial Compounds, 4.Cilt. *Food Microbiology*, 765-801.
- Davis, M., C. Osaki, D., Gordon, M. W., Hinds, K., Mottram, C., Winegar, E. D., Avner, P. I., Tarr, D., Jardine, M., Goldoft, B., Bartleson, J., Lewis, J. M., Kobayashi, G., Billman, J., Bradley, S., Hunt, P., Tanner, M., Ginsberg, L., Baret. 1993. Update: Multistate Outbreak of Escherichia Coli O157:H7 Infections from Hamburgers - Western United States, 1992-1993. *Journal of the American Medical Association*, 269(17): 2194-2196.
- De Carvalho, A. J. F., Curvelo, A. A. S., Agnelli, J. A. M. 2001. A First Insight on Composites of Thermoplastic Starch and Kaolin. *Carbohydrate Polymers*, 45(2): 189-194.
- De Oliveira, C. S., Radla, Z. B. B., Camila, D. B., Cleoci B., Ivo, M. D., Egon, S. 2019. Physicochemical, Thermal, Structural and Pasting Properties of Unconventional Starches from Ginger (*Zingiber Officinale*) and White Yam (*Dioscorea Sp.*). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 62: 1-12.
- Dhumal, C. V., Ahmed, J., Bandara, N., Sarkar, P. 2019. Improvement Of Antimicrobial Activity of Sago Starch/Guar Gum Bi-Phasic Edible Films By Incorporating Carvacrol And Citral. *Food Packaging and Shelf Life*, 21.
- Dimakopoulou-Papazoglou, D., Katsanidis, E. 2017. Effect of Maltodextrin, Sodium Chloride, and Liquid Smoke on the Mass Transfer Kinetics and Storage Stability of Osmotically Dehydrated Beef Meat. *Food and Bioprocess Technology*, 10(11): 2034-2045.
- Dolan, L. C., Matulka, R. A., Burdock, G. A. 2010. Naturally Occurring Food Toxins. In *Toxins*, 2: 2289-2332;
- Dos Santos Caetano, K., Almeida Lopes, N., Haas Costa, T. M., Brandelli, A., Rodrigues, E., Hickmann Flôres, S., Cladera-Olivera, F. 2018. Characterization of Active Biodegradable Films Based On Cassava Starch and Natural Compounds. *Food Packaging and Shelf Life*, 16: 138-147.
- Doyle, M. E. 2006. Nanotechnology: A Brief Literature Review. *Food Research Institute Briefings*. ?
- Estrada-Munoz, R., Boyle, E. A. E., Marsden, J. L. 1998. Liquid Smoke Effects on Escherichia Coli O157:H7, and its Antioxidant Properties in Beef Products. In *Journal Of Food Science*, 63(1): 150-153.

- Ezhilarasi, P. N., Karthik, P., Chhanwal, N., Anandharamkrishnan, C. 2013. Nanoencapsulation Techniques for Food Bioactive Components: A Review. In *Food and Bioprocess Technology*, 6: 628–647.
- Fabra, M. J., Sánchez-González, L., Chiralt, A. 2014. Lysozyme Release from Isolate Pea Protein and Starch Based Films and Their Antimicrobial Properties. *LWT - Food Science and Technology*. 55(1): 22-26.
- Fretheim, K., Granum, P. E., Vold, E. 1980. Influence of Generation Temperature on the Chemical Composition, Antioxidative, and Antimicrobial Effects of Wood Smoke. *Journal of Food Science*, 45(4): 999-1002.
- Gao, Y., Ozel, M. Z., Dugmore, T., Sulaeman, A., Matharu, A. S. 2021. A Biorefinery Strategy for Spent Industrial Ginger Waste. *Journal of Hazardous Materials*, 401.
- Gedela, S., Escoubas, J. R., Muriana, P. M. 2007a. Effect of Inhibitory Liquid Smoke Fractions on *Listeria monocytogenes* during Long-Term Storage of Frankfurters. *Journal of Food Protection*, 70 (2): 386–391.
- Gedela, S., Gamble, R. K., Macwana, S., Escoubas, J.R., Muriana, P. M. 2007b. Effect Of Inhibitory Extracts Derived From Liquid Smoke Combined With Postprocess Pasteurization For Control Of *Listeria Monocytogenes* On Ready-To-Eat Meats. *Journal of Food Protection*, 70(12): 2749-2756.
- Gharibzahedi, S. M. T., Hernández-Ortega, C., Welti-Chanes, J., Putnik, P., Barba, F. J., Mallikarjunan, K., Escobedo-Avellaneda, Z., Roohinejad, S. 2019. High pressure Processing of Food-Grade Emulsion Systems: Antimicrobial Activity, and Effect on The Physicochemical Properties. *Food Hydrocolloids*, 87: 307–320.
- Ghosh, V., Saranya, S., Mukherjee, A., Chandrasekaran, N. 2013. Cinnamon Oil Nanoemulsion Formulation by Ultrasonic Emulsification: Investigation of Its Bactericidal Activity. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 13(1) 114-122.
- Gökmen, S., Palamutoğlu, R., Sariçoban, C. 2012. Gıda Endüstrisinde Enkapsülasyon Uygulamaları. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 7(1): 36-50.
- Gonçalves, A., Nikmaram, N., Roohinejad, S., Estevinho, B. N., Rocha, F., Greiner, R., McClements, D. J. 2018. Production, Properties, and Applications of Solid Self-Emulsifying Delivery Systems (S-Seds) in the Food and Pharmaceutical Industries. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 538: 108–126.
- Guillen, M. D., Sopelana, P., Partearroyo, M. A. 2000. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Liquid Smoke Flavorings Obtained from Different Types of Wood. Effect of Storage in Polyethylene Flasks on Their Concentrations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(10): 5083-5087.

- Gul, O., Saricaoglu, F. T., Besir, A., Atalar, I., Yazici, F. 2018. Effect of Ultrasound Treatment on The Properties of Nano-Emulsion Films Obtained From Hazelnut Meal Protein and Clove Essential Oil. *Ultrasonics Sonochemistry*, 41: 466-474.
- Hadanu, Ruslin, Daniel A., N., A. 2016. Volatile Compounds Detected in Coconut Shell Liquid Smoke through Pyrolysis at a Fractioning Temperature of 350-420 °C. *Makara Journal of Science*, 20(3): 95-100.
- Hanum, F., 2010. Pemanfaatan Pati Jahe (*Zingiber Officinale*) Sebagai Bahan Baku Pembuatan Edible Film. Brawijaya University, Agricultural Technology, Food Technology, Lisans Tezi.
- He, X., Hwang, H. M. 2016. Nanotechnology in Food Science: Functionality, Applicability, and Safety Assessment. *Journal of Food and Drug Analysis*, 24(4): 671-681.
- Holley, R. A., Patel, D. 2005. Improvement in Shelf-Life and Safety of Perishable Foods by Plant Essential Oils and Smoke Antimicrobials. *Food Microbiology*, 22(4): 273-292.
- İlyasoğlu, H., El, S. N. 2010. Nanoemülsiyonlar: Oluşumları, Yapıları ve Kollodial Salinim Sistemleri Olarak Gıda Sektöründe Kullanım Alanları. *Gıda / The Journal of Food*, 35(2): 143-150.
- Imran, M., Revol-Junelles, A. M., Martyn, A., Tehrany, E. A., Jacquot, M., Linder, M., Desobry, S. 2010. Active Food Packaging Evolution: Transformation from Micro- to Nanotechnology. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(9): 799-821.
- Irmak Şahin, O., Bayizit Akpınar, A. 2008. Nanokompozit Filmlerin Gıda Sanayi Uygulamaları. *Türkiye 10. Gıda Kongresi*, 145-148.
- Jambrak, A. R., Lelas, V., Mason, T. J., Krešić, G., Badanjak, M. 2009. Physical Properties of Ultrasound Treated Soy Proteins. *Journal of Food Engineering*, 93(4): 386-393.
- Janjarasskul, T., Suppakul, P. 2018. Active and Intelligent Packaging: The Indication of Quality and Safety. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(5): 808-831.
- Jayasooriya, S. D., Bhandari, B. R., Torley, P., D'arcy, B. R. 2004. Effect of High Power Ultrasound Waves on Properties of Meat: A Review. In *International Journal of Food Properties*, 7(2): 301-319.
- Jeevahan, J., Chandrasekaran, M. 2019. Nanoedible Films for Food Packaging: A Review. In *Journal of Materials Science*, 54: 12290-12318.
- Jiang, S., Liu, C., Wang, X., Xiong, L., & Sun, Q. 2016. Physicochemical Properties of Starch Nanocomposite Films Enhanced by Self-Assembled Potato Starch Nanoparticles. *Lwt - Food Science and Technology*, 69: 251-257.

- Jiménez, A., Fabra, M. J., Talens, P., Chiralt, A. 2012a. Effect of Re-Crystallization on Tensile, Optical and Water Vapour Barrier Properties of Corn Starch Films Containing Fatty Acids. *Food Hydrocolloids*, 26(1): 302-310.
- Jiménez, A., Fabra, M. J., Talens, P., Chiralt, A. 2012b. Effect of Sodium Caseinate on Properties and Ageing Behaviour of Corn Starch Based Films. *Food Hydrocolloids*, 29(2): 265-271.
- Jiménez, A., Fabra, M. J., Talens, P., Chiralt, A. 2012c. Influence of Hydroxypropylmethylcellulose Addition and Homogenization Conditions on Properties and Ageing of Corn Starch Based Films. *Carbohydrate Polymers*, 89(2): 676-686.
- Jiménez, A., Fabra, M. J., Talens, P., Chiralt, A. 2013. Physical Properties and Antioxidant Capacity of Starch-Sodium Caseinate Films Containing Lipids. *Journal of Food Engineering*, 116(3): 695-702.
- Juneja, V. K., Dwivedi, H. P., Yan, X. 2012. Novel Natural Food Antimicrobials*. *Annual Review of Food Science and Technology*, 3(1): 381-403.
- Kailaku, S. I., Syakir, M., Mulyawanti, I., Syah, A. N. A. 2017. Antimicrobial Activity of Coconut Shell Liquid Smoke. *Iop Conference Series: Materials Science and Engineering*, 206(1).
- Karahalil, B. 2012. Gıda Endüstrisinde Nanoteknolojinin Kullanılması ve Güvenlik Sorunu. *Gıda*, 38(1).
- Kaur, B., Ariffin, F., Bhat, R., Karim, A. A. 2012. Progress in Starch Modification in the Last Decade. *Food Hydrocolloids*, 26(2): 398-404.
- Kilinç, M., Tomar, O., Çağlar, A. 2017. Biyobozunur Gıda Ambalaj Malzemeleri. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 17(3): 988-996.
- Kim, S. P., Yang, J. Y., Kang, M. Y., Park, J. C., Nam, S. H., Friedman, M. 2011. Composition of Liquid Rice Hull Smoke and Anti-Inflammatory Effects in Mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(9): 4570-4581.
- Kim, S. P., Kang, M. Y., Park, J. C., Nam, S. H., Friedman, M. 2012. Rice Hull Smoke Extract Inactivates Salmonella Typhimurium in Laboratory Media and Protects Infected Mice against Mortality. *Journal of Food Science*, 77(1): M80-M85.
- Kim, S., Baek, S. K., Go, E., Song, K. Bin. 2018. Application of Adzuki Bean Starch in Antioxidant Films Containing Cocoa Nibs Extract. *Polymers*, 10(11).
- Li, X., Qiu, C., Ji, N., Sun, C., Xiong, Ll., Sun, Q. 2015. Mechanical, Barrier and Morphological Properties of Starch Nanocrystals-Reinforced Pea Starch Films. *Carbonhydrates Polymers*, 121(5): 155-162.

- Li, X., Chen, W., Chang, Q., Zhang, Y., Zheng, B., Zeng, H. 2020. Structural and Physicochemical Properties of Ginger (*Rhizoma Curcumae Longae*) Starch and Resistant Starch: A Comparative Study. *International Journal of Biological Macromolecules*, 144: 67-75.
- Lim, J., Y., Jang W. Y., Carolyn J. H. 2010. A Brief Overview of *Escherichia Coli* O157:H7 and Its Plasmid O157. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20(1): 1–10.
- Lingbeck, J. M., Cordero, P., Bryan, C. A. O., Johnson, M. G., Ricke, S. C., Crandall, P. G. 2014. Functionality of Liquid Smoke as an All-Natural Antimicrobial in Food Preservation. *Mesc*, 97(2): 197–206.
- Liu, P., Gao, W., Zhang, X., Wang, B., Zou, F., Yu, B., Lu, L., Fang, Y., Wu, Z., Yuan, C., Cui, B. 2021. Effects of Ultrasonication on the Properties of Maize Starch/Stearic Acid/ Sodium Carboxymethyl Cellulose Composite Film. *Ultrasonics Sonochemistry*, 72.
- Luchese, C. L., Garrido, T., Spada, J. C., Tessaro, I. C., De La Caba, K. 2018. Development and Characterization of Cassava Starch Films Incorporated with Blueberry Pomace. *International Journal of Biological Macromolecules*, 106: 834-839.
- Marsh, K., Bugusu, B. 2007. Food Packaging - Roles, Materials, and Environmental Issues: Scientific Status Summary. In *Journal of Food Science*, 85(4): 640-644.
- Martin, E. M., O'bryan, C. A., Lary, R. Y., Griffis, C. L., Vaughn, K. L. S., Marcy, J. A., Ricke, S. C., Crandall, P. G. 2010. Spray Application of Liquid Smoke to Reduce or Eliminate *Listeria Monocytogenes* Surface Inoculated on Frankfurters. *Meat Science*, 85(4): 640-644.
- Maryam Adilah, Z. A., Jamilah, B., Nur Hanani, Z. A. 2018. Functional and Antioxidant Properties of Protein-Based Films Incorporated with Mango Kernel Extract For Active Packaging. *Food Hydrocolloids*, 74: 207-218.
- Mason, T. G., Wilking, J. N., Meleson, K., Chang, C. B., Graves, S. M. 2006. Nanoemulsions: Formation, Structure, and Physical Properties. *Journal of Physics Condensed Matter*, 18(41): 079001
- Mcclements, D. J., Decker, E. A., Weiss, J. 2007. Emulsion-Based Delivery Systems for Lipophilic Bioactive Components. *Journal of Food Science*, 72(8): R109-R124.
- Mcclements, D. J., 2011. Edible Nanoemulsions: Fabrication, Properties, and Functional Performance. In *Soft Matter*, 26-53.
- Mcclements, David Julian. 2015. Context and Background. In *Food Emulsions*, 1-27.

- Medina Jaramillo, C., Gutiérrez, T. J., Goyanes, S., Bernal, C., Famá, L. 2016. Biodegradability and Plasticizing Effect of Yerba Mate Extract on Cassava Starch Edible Films. *Carbohydrate Polymers*, 151: 150-159.
- Menzel, C., González-Martínez, C., Chiralt, A., Vilaplana, F. 2019. Antioxidant Starch Films Containing Sunflower Hull Extracts. *Carbohydrate Polymers*, 214: 142-15.
- Menzel, C., González-Martínez, C., Vilaplana, F., Diretto, G., Chiralt, A. 2020. Incorporation of Natural Antioxidants from Rice Straw into Renewable Starch Films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 146: 976-986.
- Mielnik, M. B., Olsen, E., Vogt, G., Adeline, D., Skrede, G. 2006. Grape Seed Extract as Antioxidant in Cooked, Cold Stored Turkey Meat. *LWT - Food Science and Technology*, 39(3): 191-198.
- Milly, P. J., Toledo, R. T., Ramakrishnan, S. 2005. Determination of Minimum Inhibitory Concentration of Liquid Smoke Fractions. *Journal of Food Science*, 70(1): M12-M17.
- Milly, P. (2003). Antimicrobial Properties of Liquid Smoke Fractions. University of Georgia, Graduate Faculty, Yüksek Lisans Tezi.
- Montazeri, N., Himelbloom, B. H., Oliveira, A. C. M., Leigh, M. B., Crapo, C. A. 2013. Refined Liquid Smoke: A Potential Antilisterial Additive to Cold-Smoked Sockeye Salmon (*Oncorhynchus Nerka*). *Journal of Food Protection*, 76(5): 812-819.
- Montes De Oca-Ávalos, J. M., Candal, R. J., Herrera, M. L. 2017. Nanoemulsions: Stability and Physical Properties. *Current Opinion in Food Science*, 16: 1–6.
- Morey, A., Bratcher, C. L., Singh, M., Mckee, S. R. 2012. Effect of Liquid Smoke as An Ingredient in Frankfurters on *Listeria Monocytogenes* and Quality Attributes. *Poultry Science*, 91(9): 2341-2350.
- Müller, C. M. O., Laurindo, J. B., Yamashita, F. 2009. Effect of Cellulose Fibers on the Crystallinity and Mechanical Properties of Starch-Based Films at Different Relative Humidity Values. *Carbohydrate Polymers*, 77(2):293-299.
- Nagar, M., Sharanagat, V. S., Kumar, Y., Singh, L. 2020. Development and Characterization of Elephant Foot Yam Starch–Hydrocolloids Based Edible Packaging Film: Physical, Optical, Thermal and Barrier Properties. *Journal of Food Science and Technology*, 57(4): 1331-1341.
- Nakajima, M. 2006. Nanotechnology Research for Food Science in Japan. Food Engineering Division, National Food Research Institute, NARO. 643-651.
- Nisa, I. U., Ashwar, B. A., Shah, A., Gani, A., Gani, A., Masoodi, F. A. 2015. Development of Potato Starch Based Active Packaging Films Loaded With Antioxidants and Its Effect on Shelf Life of Beef. *Journal of Food Science and Technology*, 52(11): 7245–7253.

- Nithin, C. T., Niladri S., Chatterjee, C. G., Joshy, R., Yathavamoorthi, T. R., Ananthanarayanan, S., Mathew, J., Bindu, Srinivasa G. T. K. 2020. Source-Dependent Compositional Changes in Coconut Flavoured Liquid Smoke and Its Application in Traditional Indian Smoked Fishery Products. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 37(10):1610–20.
- Nur Amila Najwa, I. S., Guerrero, P., De La Caba, K., Nur Hanani, Z. A. 2020. Physical and Antioxidant Properties of Starch/Gelatin Films Incorporated With *Garcinia Atroviridis* Leaves. *Food Packaging and Shelf Life*, 26.
- Ortega-Toro, R., Jiménez, A., Talens, P., Chiralt, A. 2014a. Effect of the Incorporation of Surfactants on the Physical Properties of Corn Starch Films. *Food Hydrocolloids*, 38: 66-75.
- Ortega-Toro, R., Jiménez, A., Talens, P., & Chiralt, A. 2014b. Properties of Starch-Hydroxypropyl Methylcellulose Based Films Obtained By Compression Molding. *Carbohydrate Polymers*, 109: 155-165.
- Otoni, C. G., Avena-Bustillos, R. J., Olsen, C. W., Bilbao-Sáinz, C., Mchugh, T. H. 2016. Mechanical and Water Barrier Properties of Isolated Soy Protein Composite Edible Films as Affected by Carvacrol and Cinnamaldehyde Micro and Nanoemulsions. *Food Hydrocolloids*, 57: 72-79.
- Öztürk, B. 2017. Nanoemulsions for Food Fortification with Lipophilic Vitamins: Production Challenges, Stability, and Bioavailability. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 119(7): 1500539.
- Piccirilli, G. N., Soazo, M., Pérez, L. M., Delorenzi, N. J., Verdini, R. A. 2019. Effect of Storage Conditions on the Physicochemical Characteristics of Edible Films Based on Whey Protein Concentrate and Liquid Smoke. *Food Hydrocolloids*, 87: 221-228.
- Pilevar, Z., Hosseini, H., Hajimehdipoor, H., Shahraz, F., Alizadeh, L., Mousavi Khaneghah, A., Mahmoudzadeh, M. 2017. The Anti-Staphylococcus Aureus Effect of Combined Echinophora Platyloba Essential Oil and Liquid Smoke in Beef. *Food Technology and Biotechnology*, 55(1): 117-124.
- Pino, J. A. 2014. Characterisation of Volatile Compounds in a Smoke Flavouring from Rice Husk. *Food Chemistry*, 153: 81-86.
- Piyada, K., Waranyou, S., Thawien, W. 2013. Mechanical, Thermal and Structural Properties of Rice Starch Films Reinforced with Rice Starch Nanocrystals. *International Food Research Journal*, 20(1): 439-449.
- Polat, S., Fenercioğlu, H. 2014. Gıda Ambalajlamasında Nanoteknoloji Uygulamaları: İnorganik Nanopartiküllerin Kullanımı. *Gıda/The Journal of Food*, 39(3): 187-194.

- Putranto, A. W., Oktaviani, A., Puspaningarum, F. P., Sukardi. 2020. Coconut Shell-Liquid Smoke Production Based on the Redistillation-Filtration Technology and its Characterisation. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 475(012039).
- Pyla, R., Kim, T. J., Silva, J. L., Jung, Y. S. 2010. Enhanced Antimicrobial Activity of Starch-Based Film Impregnated With Thermally Processed Tannic Acid, A Strong Antioxidant. *International Journal of Food Microbiology*, 137(2-3): 154-160.
- Qin, Y., Liu, Y., Zhang, X., Liu, J. 2020. Development of Active and Intelligent Packaging by Incorporating Betalains from Red Pitaya (*Hylocereus Polyrhizus*) Peel into Starch/Polyvinyl Alcohol Films. *Food Hydrocolloids*, 100.
- Quintanar-Guerrero, D., De La Luz Zambrano-Zaragoza, M., Gutierrez-Cortez, E., Mendoza-Munoz, N. 2012. Impact of the Emulsification-Diffusion Method on the Development of Pharmaceutical Nanoparticles. *Recent Patents on Drug Delivery & Formulation*, 6(3): 184-194.
- Ramakrishnan, S., Moeller P. 2012. Liquid Smoke: Product of Hardwood Pyrolysis. *Fuel Chemistry Division Preprints*, 47(2002): 366-367.
- Reyes, B. F. G. R., Appolonia, B. L. 2017. Characterization of Starch from Ginger Root (*Zingiber off Icinale*). January 1982. *Starch - Stärke*, 34(2): 40-44.
- Reyes, F. G. R., D'appolonia, B. L., Ciacco, C. F., Montgomery, M. W. 1982. Characterization of Starch from Ginger Root (*Zingiber Officinale*). *Starch - Stärke*, 34(2): 40-44.
- Rhim, J. W., Park, H. M., Ha, C. S. 2013. Bio-Nanocomposites for Food Packaging Applications. *In Progress in Polymer Science*, 38(10-11): 1629-1652.
- Roy, K., Thory, R., Sinhmar, A., Pathera, A. K., Nain, V. 2020. Development and Characterization of Nano Starch-Based Composite Films From Mung Bean (*Vigna Radiata*). *International Journal of Biological Macromolecules*, 144: 242-251.
- Sabbah, M., Esposito, M. 2016. Insight into Zeta Potential Measurements in Biopolymer Film Preparation. *Journal of Biotechnology & Biomaterials*, 6(2): e126.
- Saberi, B., Vuong, Q. V., Chockchaisawasdee, S., Golding, J. B., Scarlett, C. J., Stathopoulos, C. E. 2017. Physical, Barrier, and Antioxidant Properties of Pea Starch-Guar Gum Biocomposite Edible Films by Incorporation of Natural Plant Extracts. *Food and Bioprocess Technology*, 10(12): 2240-2250
- Saka, E., Terzi Gülel, G. 2015. Gıda Endüstrisinde Nanoteknoloji Uygulamaları. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 26(2): 52-57.

- Saloko, S., Darmadji, P., Setiaji, B., Pranoto, Y., Anal, A. K. (2013). Encapsulation of Coconut Shell Liquid Smoke in Chitosan-Maltodextrin Based Nanoparticles. *International Food Research Journal*, 20(3): 1269–1276.
- Saloko, Satrijo, Darmadji, P., Setiaji, B., Pranoto, Y. 2014. Antioxidative and Antimicrobial Activities of Liquid Smoke Nanocapsules Using Chitosan and Maltodextrin and its Application on Tuna Fish Preservation. *Food Bioscience*, 7: 71–79.
- Saloko, Satrijo, Purnama, D., Setiaji, B., Pranoto, Y. 2016. Determination of Principal Volatile Compounds of Nanoencapsulated Coconut Shell-Liquid Smoke as a Food Determination of Principal Volatile Compounds of Nanoencapsulated Coconut Shell-Liquid Smoke as a Food Biopreservative. *Original Research Article Journal of Advances in Food Science and Technology*, 3(3): 114-118.
- Salvia-Trujillo, L., Rojas-Graü, M. A., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O. 2014. Impact of Microfluidization or Ultrasound Processing on the Antimicrobial Activity against *Escherichia Coli* of Lemongrass Oil-Loaded Nanoemulsions, *Food Control*, 37(1): 292–297.
- Schneider, Y., Susann Z., Jörg H., Mike. W.,Harald R. 2006. Acoustic Cavitation Induced by Ultrasonic Cutting Devices: A Preliminary Study. *Ultrasonics Sonochemistry*, 13(2): 117-120.
- Sekhon, B. S. 2010. Food Nanotechnology - An Overview. In *Nanotechnology, Science and Applications*.
- Shanmugam, A., Chandrapala, J., Ashokkumar, M. 2012. The Effect of Ultrasound on the Physical and Functional Properties of Skim Milk. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 16: 251-258.
- Shi, A. M., Wang, L. J., Li, D., Adhikari, B. 2013. Characterization of Starch Films Containing Starch Nanoparticles Part 1: Physical and Mechanical Properties. *Carbohydrate Polymers*, 96(2): 593-601.
- Silva, H. D., Cerqueira, M. Â., Vicente, A. A. (2012). Nanoemulsions for Food Applications: Development and Characterization. *Food Bioprocess Technology*, 5: 854–867.
- Šimko, P. 2005. Factors Affecting Elimination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Smoked Meat Foods and Liquid Smoke Flavorings. *Molecular Nutrition and Food Research*. *Molecular Nutrition and Food Research*, 49: 637–647.
- Siskos, I., Zotos, A., Melidou, S., Tsikritzi, R. 2007. The Effect of Liquid Smoking of Fillets of Trout (*Salmo Gairdnerii*) on Sensory, Microbiological and Chemical Changes during Chilled Storage. *Food Chemistry*, 101(2): 458-464.

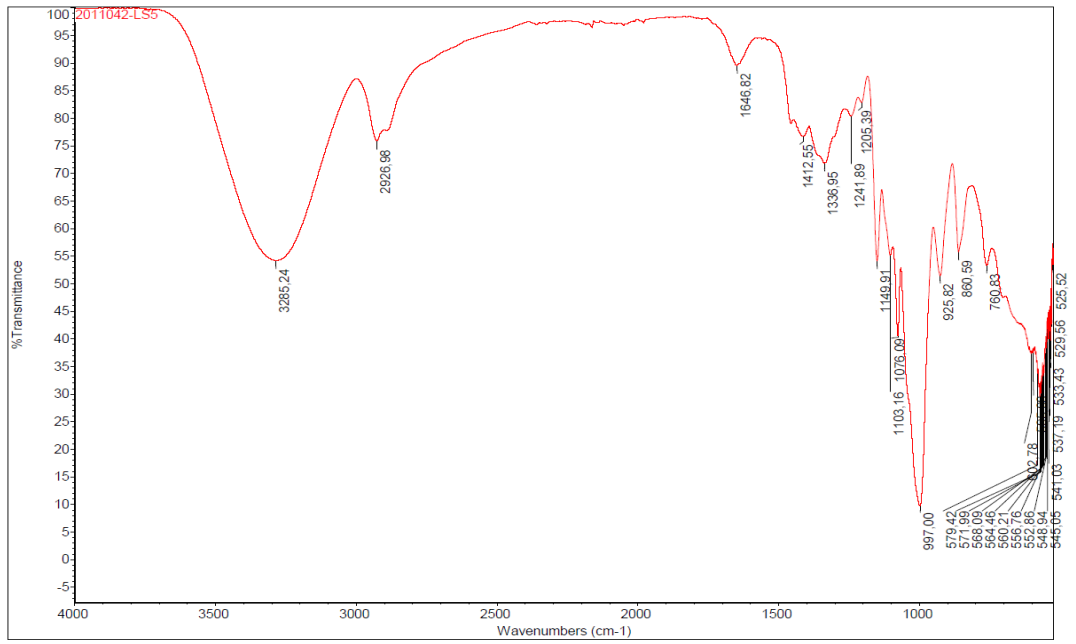
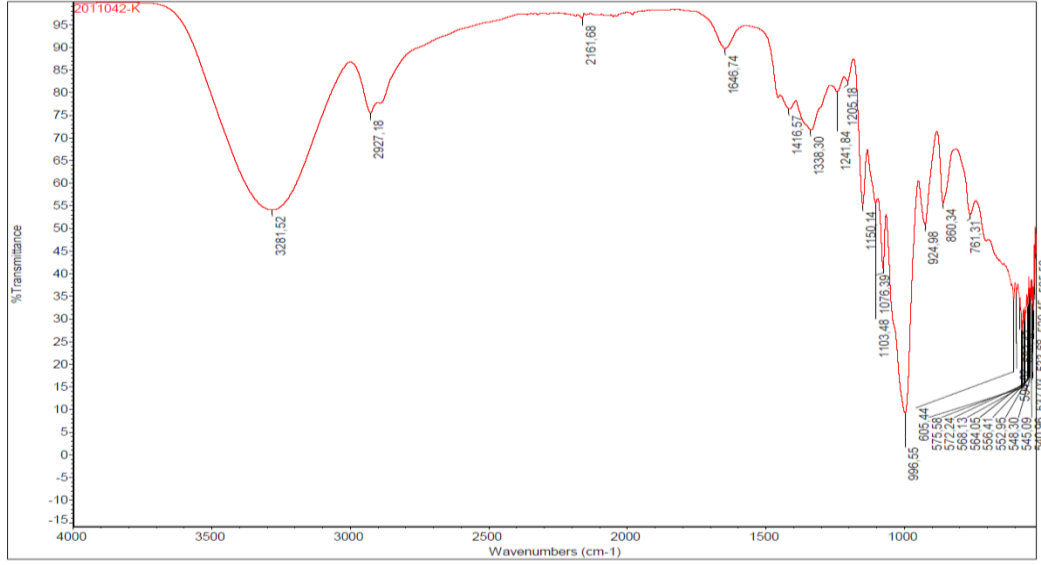
- Soares, J. M., Da Silva, P. F., Puton, B. M. S., Brustolin, A. P., Cansian, R. L., Dallago, R. M., Valduga, E. 2016. Antimicrobial and Antioxidant Activity of Liquid Smoke and its Potential Application to Bacon. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 38: 189–197.
- Soazo, M., Pérez, L. M., Piccirilli, G. N., Delorenzi, N. J., Verdini, R. A. 2016. Antimicrobial and Physicochemical Characterization of Whey Protein Concentrate Edible Films Incorporated With Liquid Smoke. *LWT - Food Science and Technology*, 72: 285–291.
- Sofos, J. N., Maga, J. A., Boyle, D. L. 1988. Effect of Ether Extracts from Condensed Wood Smokes on The Growth of *Aeromonas Hydrophila* and *Staphylococcus Aureus*. *Journal of Food Science*, 53(6): 1840–1843.
- Sokamte Tegang, A., Mbougoung, P. D., Sachindra, N. M., Douanla Nodem, N. F., Tatsadjieu Ngoune, L. 2020. Characterization of Volatile Compounds of Liquid Smoke Flavourings from Some Tropical Hardwoods. *Scientific African*, 8(E000443).
- Solans, C., Izquierdo, P., Nolla, J., Azemar, N., Garcia-Celma, M. J. 2005. Nano-Emulsions. In *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 10(3-4): 102-110.
- Sukhija, S., Singh, S., Riar, C. S. 2016. Isolation of Starches from Different Tubers and Study of Their Physicochemical, Thermal, Rheological and Morphological Characteristics. *Starch/Staerke*, 68(1–2), 160-168.
- Sun, L., Sun, J., Chen, L., Niu, P., Yang, X., Guo, Y. 2017. Preparation and Characterization of Chitosan Film Incorporated With Thinned Young Apple Polyphenols as an Active Packaging Material. *Carbohydrate Polymers*, 163: 81-91.
- Surboyo, M. D. C., Arundina, I., Rahayu, R. P., Mansur, D., Bramantoro, T. 2019. Potential of Distilled Liquid Smoke Derived from Coconut (*Cocos Nucifera* L) Shell for Traumatic Ulcer Healing in Diabetic Rats. *European Journal of Dentistry*, 13(2): 271-279.
- Sürengil, G. 2011. Gıda - Ambalaj Sektöründe Nanoteknolojik Uygulamalar ve Su Ürünleri Açısından Önemi. *Journal of Fisheriesciences.com*, 5(4): 317-325.
- Tarhan, Ö., Gökmen, V., Harsa, Ş. 2016. Nanoteknolojinin Gıda Bilim ve Teknoloji Alanındaki Uygulamaları. *Benha Medical Journal*, 33(1): 1.
- Tiwari, S. B., Shenoy, D. B., Amiji, M. M. 2006. Nanoemulsion Formulations for Improved Oral Delivery of Poorly Soluble Drugs. 2006 NSTI Nanotechnology Conference and Trade Show- NSTI Nanotech 2006 Technical Proceedings, 1: 475–478.

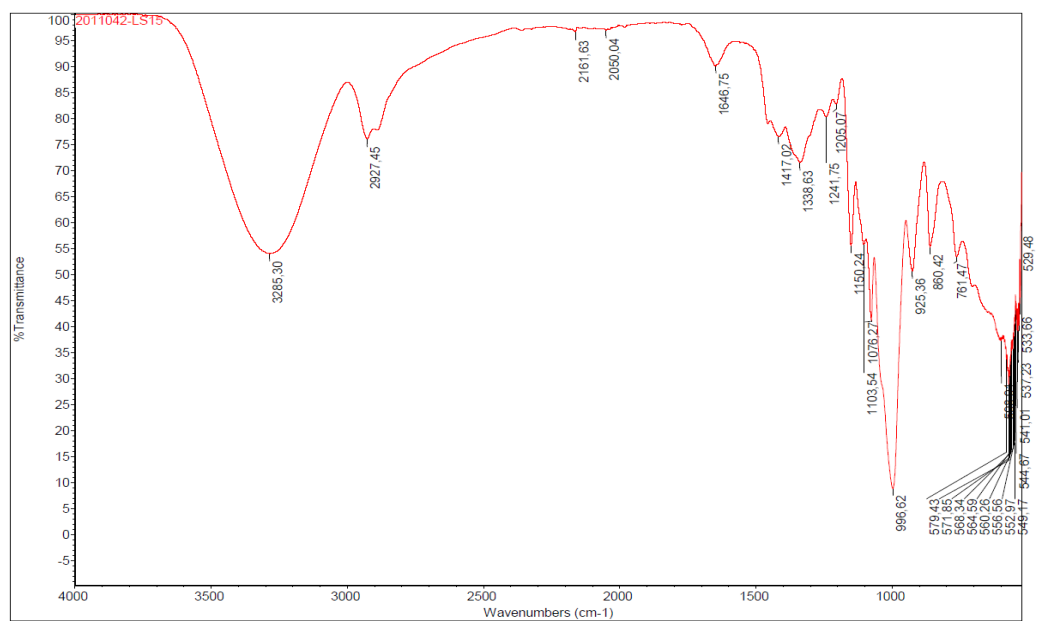
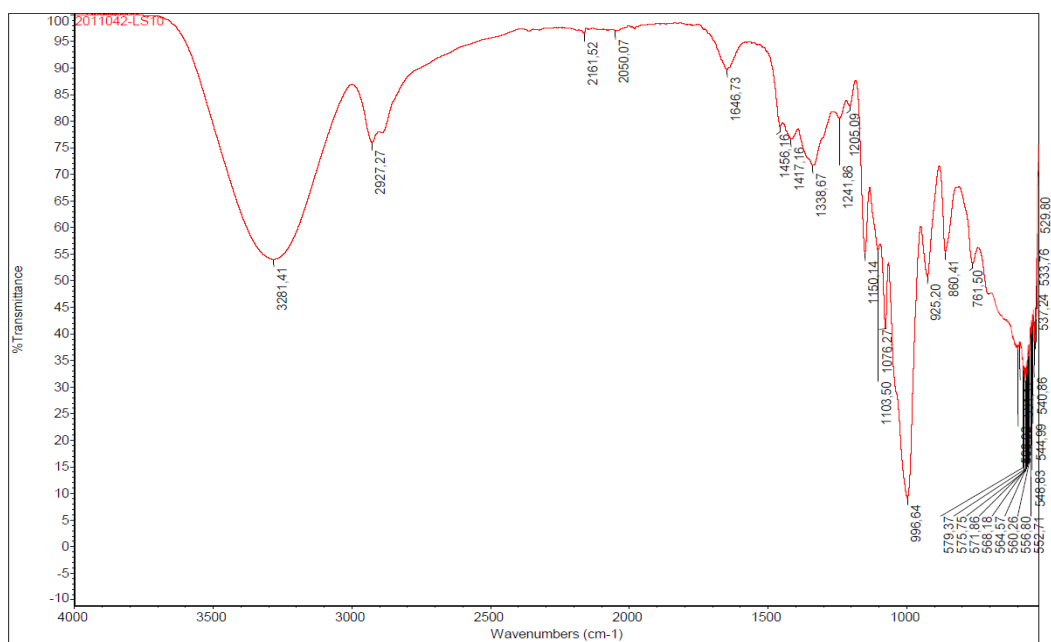
- Tural, S., Turhan, S. 2017. Properties and Antioxidant Capacity of Anchovy (*Engraulis encrasicolus*) By-Product Protein Films Containing Thyme Essential Oil. *Food Technology and Biotechnology*, 55(1): 77-85.
- Van Loo, E. J., Babu, D., Crandall, P. G., Ricke, S. C. 2012. Screening of Commercial and Pecan Shell-Extracted Liquid Smoke Agents as Natural Antimicrobials Against Foodborne Pathogen. *Journal of Food Protection*, 75(6): 1148–1152.
- Vitt, S. M., Himelbloom, B. H., Crapo, C. A. 2001. Inhibition of *Listeria innocua* and *L. monocytogenes* in a Laboratory Medium and Cold-Smoked Salmon Containing Liquid Smoke. *Journal of Food Safety*, 21(2): 111–125.
- Wang, W., Li, C., Zhang, H., Ni, Y. 2016. Using Liquid Smoke to Improve Mechanical and Water Resistance Properties of Gelatin Films. *Journal of Food Science*, 81(5): E1151–E1157.
- Wang, R., Liu, P., Cui, B., Kang, X., Yu, B. 2019. Effects of Different Treatment Methods on Properties of Potato Starch-Lauric Acid Complex and Potato Starch-Based Films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 124; 34–40.
- Wittaya, T. 2012. Rice Starch-Based Biodegradable Films: Properties Enhancement, 5.Cilt. *Structure and Function of Food Engineering*, 103-136.
- Xin, X., Bissett, A., Wang, J., Gan, A., Dell, K., Baroutian, S. 2021. Production of Liquid Smoke Using Fluidised-Bed Fast Pyrolysis and its Application to Green Lipped Mussel Meat. *Food Control*, 124.
- Xu, H., Yang, B., Wang, J., Guang, S., Li, C. 2005. Preparation, Thermal Properties, and Tg Increase Mechanism of Poly(Acetoxystyrene-Co-Octavinyl-Polyhedral Oligomeric Silsesquioxane) Hybrid Nanocomposites. *Macromolecules*, 38(25): 10455–10460.
- Xu, Y., Rehmani, N., Alsubaie, L., Kim, C., Sismour, E., Scales, A. 2018. Tapioca Starch Active Nanocomposite Films and Their Antimicrobial Effectiveness on Ready-To-Eat Chicken Meat. *Food Packaging and Shelf Life*, 16: 86–91.
- Xue Mei, L., Mohammadi Nafchi, A., Ghasemipour, F., Mat Easa, A., Jafarzadeh, S., Al-Hassan, A. A. 2020. Characterization of Ph Sensitive Sago Starch Films Enriched with Anthocyanin-Rich Torch Ginger Extract. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164: 4603-4612.
- Yalçın, K. A. 2010. Nanoteknoloji vee Gıda Sanayiinde Uygulama Alanları. In Namık Kemal Üniversitesi. Fen Bilimler İnstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Yazdanbakhsh, Fatemeh, M., Aziziyan, T. The effect of cavitation in the optimal extraction of active ingredients from medicinal plants (*Thymus vulgaris* and *Eucalyptus*). *International Journal of Biological Sciences and Technology*, Coimbatore, 12(1): 1-6.

- Yemiş, G. P., Candoğan, K. 2017. Antibacterial Activity of Soy Edible Coatings Incorporated with Thyme and Oregano Essential Oils on Beef Against Pathogenic Bacteria. *Food Science and Biotechnology*, 26(4): 1113-1121.
- Yuan, D., Meng, H., Huang, Q., Li C., Fu, X. 2021. Preparation and Characterization of Chitosan-Based Edible Active Films Incorporated with *Sargassum Pallidum* Polysaccharides by Ultrasound Treatment. *International Journal of Biological Macromolecules*, 183: 473-480.
- Zhang, Z., H. Feng, Y. N., Eckhoff, S. R. 2005. Starch Recovery from Degermed Corn Flour and Hominy Feed Using Power Ultrasound. *Cereal Chemistry*, 82(4): 447–49.
- Zhang, J., Peppard, T. L., Reineccius, G. A. 2015. Preparation and Characterization of Nanoemulsions Stabilized by Food Biopolymers Using Microfluidization. *Flavour and Fragrance Journal*, 30(4): 288-294.
- Zhang, W., Shu, C., Chen, Q., Cao, J., Jiang, W. 2019. The Multi-Layer Film System Improved The Release and Retention Properties of Cinnamon Essential Oil and Its Application as Coating in Inhibition to *Penicillium* Expansion of Apple Fruit. *Food Chemistry*, 299.
- Zhong, Y., Song, X., Li, Y. 2011. Antimicrobial, Physical and Mechanical Properties of Kudzu Starch-Chitosan Composite Films as a Function of Acid Solvent Types. *Carbohydrate Polymers*, 84(1): 335-342.
- Ziani, K., Chang, Y., Mclandsborough, L., Mcclements, D. J. 2011. Influence of Surfactant Charge on Antimicrobial Efficacy of Surfactant-Stabilized Thyme Oil Nanoemulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(11): 6247-6255.
- Züllli, F., Belser, E., Schmid, D., Liechti, C., Suter, F., Mibelle, A. G. 2006. Preparation and Properties of Coenzyme Q10 Nanoemulsions. *Cosmetic Science and Technology*, 10: 40–46.
- Zuraida. 2011. Antibacterial Activity of Coconut Shell Liquid Smoke (CS-LS) and its Application on Fish Ball Preservation, 18(1): 405–410.
- Zuraida, I., Sukarno, Budijanto, S. 2011. Antibacterial Activity of Coconut Shell Liquid Smoke (CS-LS) and its Application on Fish Ball Preservation. *International Food Research Journal*, 18(1): 405–410.

EKLER

EK 1: Yenilebilir filmlere ait FTIR spektrumları





ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Yovita Rahmasari

ÖĞRENİM DURUMU

| Derece | Eğitim Birimi | Mezuniyet Yılı |
|---------------|---|-----------------------|
| Yüksek Lisans | Sakarya Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü / Gıda Mühendisliği | Devam ediyor |
| Lisans | Brawijaya Üniversitesi / Ziraat Teknolojisi Fakültesi / Gıda Bilimi ve Teknolojisi | 2015 |
| Lise | SMA Negeri 2 Malang Lisesi | 2008 |

YABANCI DİL

Türkçe
İngilizce